

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LARISSA BACH

AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE TRI-HALOMETANOS EM PROCESSOS DE
CLORAÇÃO DE ÁGUA E ESTUDO DO EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO
FUNDAMENTADO NO USO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

CURITIBA

2014

LARISSA BACH

AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE TRI-HALOMETANOS EM PROCESSOS DE
CLORAÇÃO DE ÁGUA E ESTUDO DO EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO
FUNDAMENTADO NO USO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção
do grau de Mestre em Química, no Programa de Pós-
Graduação em Química, Setor de Ciências Exatas,
Universidade Federal do Paraná.
Sub-área: Química Analítica

Orientador: Prof. Dr. Patricio G. Peralta-Zamora

CURITIBA

2014

B118a

Bach, Larissa

Avaliação da formação de tri-halometanos em processos de cloração de água e estudo do efeito do pré-tratamento fundamentado no uso de radiação ultravioleta/ Larissa Bach. – Curitiba, 2014.
94f. : il. color. ; 30 cm.

Dissertação - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Exatas, Programa de Pós-graduação em Química, 2014.

Orientador: Patricio G. Peralta-Zamora .

Bibliografia: p. 82-94.

1. Ácido húmico. 2. Solventes. 3. Quimiometria. 4. Radiação ultravioleta.
5. Abastecimento de água - Controle da contaminação ambiental - Segurança.
I. Universidade Federal do Paraná. II.Peralta-Zamora, Patricio G.. III. Título.

CDD: 628.1662

TERMO DE APROVAÇÃO

**AVALIAÇÃO DA FORMAÇÃO DE TRI-HALOMETANOS EM PROCESSOS DE
CLORAÇÃO DE ÁGUA E ESTUDO DO EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO
FUNDAMENTADO NO USO DE RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA**

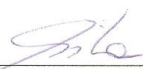
por

LARISSA BACH

Dissertação aprovada como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre no Programa de Pós-Graduação em Química,
pela Comissão Examinadora composta por:

Orientador:


Prof. Dr. Patricio Guillermo Peralta Zamora
Dep. de Química – UFPR


Prof.ª Dr.ª Maria Cristina Borba Braga
Dep. de Hidráulica e Saneamento – UFPR


Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi
Dep. de Química – UFPR

Curitiba, 25 de julho de 2014.

Dedico este trabalho aos meus amados pais, José Moacir e Helena, por todo amor, incentivo e exemplo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus e Nossa Senhora de Fátima, que me amparam nos momentos mais difíceis, sempre me mostram o caminho, me iluminam e me protegem.

À minha família, em especial aos meus pais José Moacir e Helena, e minha irmã Andressa, por todos os ensinamentos que vieram de berço, como respeito, gratidão e dignidade, além de todos os incentivos para realizar meus sonhos e nunca medem esforços para ajudar a realizá-los, mesmo a centenas de quilômetros de distância a presença diária de vocês foi fundamental nesta etapa.

À Luciana Rafagnin, que abriu as portas de sua casa e me acolheu como uma filha. Muito obrigada pelo abrigo, companhia, incentivo e por todo o apoio durante estes dois anos de mestrado.

Ao Alexandre, pelo companheirismo, presença amorosa e por todo o apoio, incentivo e paciência nos momentos de ausência e das minhas “crises existenciais”.

Ao meu orientador Prof. Dr. Patricio G. Peralta-Zamora, exemplo de profissional, que me recebeu de braços abertos em seu grupo de pesquisa me tornando assim, um “cabeção”. Agradeço também pelos incontáveis cafezinhos logo de manhã que sempre renderam boas discussões, por todo o incentivo, dedicação e principalmente por confiar em meu trabalho.

Ao Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi que prontamente aceitou participar da Banca de Defesa deste trabalho, além das valiosas contribuições feitas durante as correções do projeto inicial, do relatório anual e principalmente no exame de qualificação e defesa.

À Profa. Dra. Maria Cristina Borba Braga, do Departamento de Hidráulica e Saneamento da UFPR, por aceitar participar da Banca de Defesa e pelas inúmeras sugestões e contribuições.

Ao SESI/SENAI da Cidade Industrial de Curitiba, em especial o Alexandre e a Sara do Laboratório Ambiental, que gentilmente realizaram todas as análises de HS-CG-DCE e pela infraestrutura disponibilizada.

Ao grupo TECNOTRATER que prontamente me acolheu e muitas vezes foram a minha segunda família. Meninas, obrigada por fazerem parte desta caminhada, sem

a amizade, cumplicidade, apoio, puxões de orelhas e risadas, tudo teria sido mais difícil.

À Ellery que deu o pontapé inicial neste trabalho, pelo companheirismo durante a realização deste projeto, pelas intermináveis noites no laboratório (22:00... 23:00...23:30 e nós trabalhando), pelos lanches “saudáveis” pós-experimentos, conversas filosóficas, mas a cima de tudo gostaria de agradecer pela nossa amizade, que como já falei “THM, desde 2012 unindo pessoas <3”.

À todos os amigos do LABQAM pela convivência amigável e pelos laços de amizades.

Aos órgãos de fomento à pesquisa, CAPES e CNPq, pelo apoio financeiro ao longo de todo o mestrado.

E a todos aqueles que, mesmo indiretamente, contribuíram para a realização deste trabalho, e principalmente contribuíram para o meu crescimento profissional e pessoal.

Muito Obrigada!

RESUMO

As operações de desinfecção de água são necessárias para garantir a segurança sanitária da distribuição. Contudo, a reação entre os desinfetantes químicos e a matéria orgânica natural, presente nas águas de captação, leva à geração de subprodutos indesejáveis, alguns dos quais de reconhecido efeito tóxico. No caso da desinfecção fundamentada no uso de cloro destaca-se a geração de tri-halometanos (THM), espécies detectadas na água de consumo desde a década de 1970. Em função desta constatação, grandes esforços têm sido dedicados à proposta de métodos alternativos de desinfecção, incluindo sistemas de pré-tratamento fundamentados no uso de radiação, tipicamente ultravioleta. O principal objetivo deste trabalho consistiu em estudar a formação de THM em processos de cloração envolvendo um substrato modelo (ácido húmico) e verificar o efeito de pré-tratamentos fundamentados no uso de radiação ultravioleta (UVC). O efeito de variáveis de relevância (concentração de ácido húmico e hipoclorito de sódio, presença de brometo, temperatura e pH) na geração de THM foi preliminarmente avaliado por um sistema de planejamento fatorial fracionário (2^{5-1}), estudo multivariado que permitiu verificar um efeito diferenciado destas variáveis na formação de cada um dos THM monitorados, assim como importantes efeitos de ordem superior que demonstram a complexidade destes tipos de reações. Nos estudos de cloração realizados na ausência de brometo foi constatada a formação de elevadas concentrações de clorofórmio (aproximadamente $80 \mu\text{g L}^{-1}$), enquanto que na sua presença a formação de THM bromados foi preferencial, particularmente de bromofórmio (aproximadamente $50 \mu\text{g L}^{-1}$). Os resultados observados na caracterização espectroscópica do ácido húmico durante a cloração sugerem que a reação é iniciada com o ataque do oxidante às estruturas aromáticas condensadas, o que provoca desestabilização da estrutura, quebra de anéis e formação de estruturas alifáticas mais estáveis. Um efeito similar foi observado nos pré-tratamentos fundamentados no uso de radiação UVC. Neste caso, entretanto, os resultados sugerem que a radiação promove a modificação das estruturas aromáticas, sem formação de estruturas alifáticas, e sim de estruturas condensadas, provavelmente com até 7 anéis. Esta modificação parece propiciar a diminuição de THM em processos de cloração realizados na ausência de brometo. Entretanto, parece favorecer a geração de THM bromados em processos realizados na presença de brometo. Em função destes resultados é possível concluir que os sistemas de potabilização de água não devam ser universalizados, em razão da geração de subprodutos de desinfecção ser extremamente dependente da natureza química das águas submetidas a tratamento.

Palavras-chave: Ácido Húmico; Tri-halometanos; Planejamento fatorial; Radiação Ultravioleta; Pré-tratamento.

ABSTRACT

Several disinfection procedures are necessary to warrant the sanitary security in potable water. However, some by-products with known potential toxicity are formed in the reaction between chemical disinfectants and natural organic matter present in water. The trihalomethanes (THM), which are formed during the chlorination (chemical disinfection based on oxidation with chlorine) were first detected in water in 1970. From these statements, alternative disinfection methods have been proposed including pre-treatment systems based on radiation, typically ultraviolet. The aims of this work used to study the formation of four THM (chloroform, bromodichloromethane, dibromochloromethane and bromoform), during chlorination process using humic acid as model substrate and to verify the UVC radiation effect applied in chlorination pre-treatment. Five variables' effects were studied in the formation of THM (humic acid and sodium hypochlorite concentration, bromide ion influence, temperature and pH) by a factorial fractional design (2^{5-1}). This multivariate study allowed the observation of some important superior-order-effects in each THM formation, showing the complexity of the process. It was observed that in the chlorination assays with the absence of bromide ion, chloroform was formed in high concentrations (about $80 \mu\text{g L}^{-1}$). However, in the presence of bromide ion, bromated THM species were majority formed, particularly bromoform (about $50 \mu\text{g L}^{-1}$). The spectroscopic characterization suggested that chlorination reaction begins with the attack of the oxidizing agent to the condensed aromatic structures, which are modified and the ring is destabilized, originating more stable aliphatic structures. A similar effect was observed in UVC radiation pre-treatment, although in this case the radiation promotes the modification of the aromatic structures and form condensed aromatics structures with up to seven rings. This modification provided the reduction of THM formation on assays carried out in the absence of bromide ion, whereas in the presence of bromide ion, it was observed the improvement of bromated THM formation. Accordingly, it was concluded that water treatment systems should not be universalized, due to dependence the generation of disinfection by-products on water's chemical nature.

Key-words: Humic Acid; Trihalomethanes; Factorial Design; Ultraviolet Radiation; Pre-treatment.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 01 – EVOLUÇÃO DAS PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE TRI-HALOMETANOS EM ÁGUA	2
FIGURA 02 – EVOLUÇÃO DOS SISTEMAS DE DESINFECÇÃO DE ÁGUA E O PERÍODO TEMPORAL QUE MAIS FORAM PESQUISADOS.....	3
FIGURA 03 – REPRESENTAÇÃO SIMPLIFICADA DE UM SISTEMA BÁSICO DE POTABILIZAÇÃO DE ÁGUA.....	6
FIGURA 04 – PROPORÇÃO DA POPULAÇÃO COM ACESSO À FONTE DE ÁGUA POTÁVEL E SANEAMENTO BÁSICO NO ANO DE 1991 E DE 2011; ONDE TEM-SE: AFR = REGIÃO DA AFRICA; AMR = REGIÃO DAS AMÉRICAS; SEAR = REGIÃO DO SUDESTE ASIÁTICO; EUR = REGIÃO DA EUROPA; EMR = REGIÃO DO MEDITERRÂNEO ORIENTAL; WPR = REGIÃO DO PACÍFICO OCIDENTAL.....	6
FIGURA 05 – PROPORÇÃO DO VOLUME DE ÁGUA DISTRIBUÍDA POR DIA, TRATADA E SEM TRATAMENTO, NAS GRANDES REGIÕES DO BRASIL NO ANO DE 2008.....	7
FIGURA 06 – PROPOSTA DE ESTRUTURA PARCIAL DO ÁCIDO HÚMICO.....	9
FIGURA 07 – MODELO DE ÁCIDO HÚMICO PROPOSTO POR SCHULTEN E SCHNITZER EM 1993.....	10
FIGURA 08 – DISTRIBUIÇÃO RELATIVA DAS ESPÉCIES AQUOSAS DE CLORO, EM FUNÇÃO DO PH A 25 °C E CONCENTRAÇÃO DE $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$..	18
FIGURA 09 – TRI-HALOMETANOS PASSÍVEIS DE FORMAÇÃO DURANTE A CLORAÇÃO DA ÁGUA	22
FIGURA 10 – PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A FORMAÇÃO DE CLOROFÓRMIO A PARTIR DE ÁCIDO 3,5-DIIDRÓXIBENZÓICO	22
FIGURA 11 – FORMAÇÃO DO CLOROFÓRMIO ATRAVÉS DA METIL-CETONA....	23
FIGURA 12 – ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DO ÁCIDO HÚMICO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES	41
FIGURA 13 – ESPECTRO UV-VIS DO ÁCIDO HÚMICO, SEGUNDO METODOLOGIA DE CHEN <i>et al</i> (1977)	42
FIGURA 14 – SEQUÊNCIA DE ESPECTROS DE EXCITAÇÃO-EMISSÃO PARA SOLUÇÕES DE ÁCIDO HÚMICO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES	

A) 20,0 mg L ⁻¹ ; B) 10,0 mg L ⁻¹ ; C) 5,0 mg L ⁻¹ ; D) 3,0 mg L ⁻¹ ; E) 1,0 mg L ⁻¹	44
FIGURA 15 – RELAÇÃO ENTRE INTENSIDADE DE FLUORESCÊNCIA E PH PARA UMA SOLUÇÃO AQUOSA DE 5,0 mg L ⁻¹ DE ÁCIDO HÚMICO.....	45
FIGURA 16 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA REALIZADOS NO MODO SINCRONIZADOS ($\Delta\lambda$ =18 nm) PARA DIFERENTES FRAÇÕES DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E MATÉRIA ORGÂNICA NATURAL	46
FIGURA 17 – ESPECTRO DE FLUORESCÊNCIA NO MODO SINCRONIZADO ($\Delta\lambda$ = 18 nm) DO ÁCIDO HUMICO COMERCIAL.	47
FIGURA 18 – ESPECTRO DE INFRAVERMELHO DO ÁCIDO HÚMICO, OBTIDO NO ESTADO SÓLIDO	48
FIGURA 19 – SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DOS QUATRO THM: CLOROFÓRMIO, BROMODICLOROMETANO, DIBROMOCOLOROMETANO E BROMOFÓRMIO POR HS-CG-DCE, DE UMA SOLUÇÃO PADRÃO DE 50 µg L ⁻¹	50
FIGURA 20 – CURVAS ANALÍTICAS DA METODOLOGIA DESENVOLVIDA NO HS- CG-DCE PARA A DETERMINAÇÃO DE CLOROFÓRMIO (A), BROMODICLOROMETANO (B), DIBROMOCOLOROMETANO (C) E BROMOFÓRMIO (D).....	51
FIGURA 21 – GRÁFICO DA ESTIMATIVA DO DESVIO PADRÃO RELATIVO (%) VERSUS CONCENTRAÇÃO DO PADRÃO (µg L ⁻¹).....	53
FIGURA 22 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM NA MODIFICAÇÃO DO SINAL DE FLUORESCÊNCIA ASSOCIADO À CLORAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO.....	57
FIGURA 23 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE A CONCENTRAÇÃO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO E DO BROMETO DE POTÁSSIO	60
FIGURA 24 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO SIGNIFICATIVO DE TERCEIRA ORDEM ENTRE CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO, HIPOCLORITO DE SÓDIO E BROMETO DE POTÁSSIO	61
FIGURA 25 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO E DE	

BROMETO DE POTÁSSIO, PARA A FORMAÇÃO DO DIBROMOCLOROMETANO	63
FIGURA 26 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO SIGNIFICATIVO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE AS VARIÁVEIS TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE BROMETO DE POTÁSSIO	64
FIGURA 27 – EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLOROFÓRMIO DURANTE A CLORAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO NA AUSÊNCIA DE ÍONS BROMETOS	66
FIGURA 28 – EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS THM (CLOROFÓRMIO, BROMODICLOROMETANO, DIBROMOCLOROMETANO, BROMOFÓRMIO E THM TOTAIS) DURANTE A CLORAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO NA PRESENÇA DE BROMETO.....	68
FIGURA 29 – ESPECTROS TRIDIMENSIONAIS DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR DO ÁCIDO HÚMICO, RESPECTIVAMENTE, NOS TEMPOS ZERO (A), 15 (B) E 45 MINUTOS (C) DA REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA AUSÊNCIA DE BROMETOS.....	70
FIGURA 30 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) PARA A REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA AUSÊNCIA DE ÍONS BROMETOS MONITORADA DURANTE 120 MINUTOS.....	72
FIGURA 31 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) PARA A REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA PRESENÇA DE ÍONS BROMETOS MONITORADA DURANTE 120 MINUTOS.....	72
FIGURA 32 – ESPECTROS ELETRÔNICOS PARA A REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA PRESENÇA DE ÍONS BROMETOS MONITORADA DURANTE 120 MINUTOS.....	73
FIGURA 33 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) OBTIDOS APÓS A EXPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO CONTENDO ÍONS BROMETOS, A UMA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA UVC DE 9 W DURANTE 120 MINUTOS.....	74
FIGURA 34 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) OBTIDOS APÓS A EXPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO A UMA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA UVC DE 9 W DURANTE 120 MINUTOS.....	74

FIGURA 35 – ESPECTRO UV-VIS DA SOLUÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO, CONTENDO ÍONS BROMETOS, EXPOSTO A RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (9 W) DURANTE 120 MINUTOS.....	75
FIGURA 36 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM EXISTENTE ENTRE POTÊNCIA E TEMPO DE EXPOSIÇÃO, PARA OS ENSAIOS DE PRÉ-TRATAMENTO COM RADIAÇÃO UVC EM SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO SEM A ADIÇÃO DE ÍONS BROMETOS.....	78
FIGURA 37 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA PARA O EFEITO SIGNIFICATIVO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE POTÊNCIA E TEMPO PARA A FORMAÇÃO DO BROMODICLOROMETANO À ESQUERDA, E PARA O DIBROMOCOLOROMETANO À DIREITA.	80

LISTA DE TABELAS

TABELA 01 – ORGANISMOS PATOGÊNICOS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA E TRANSMISSÃO FECAL-ORAL E SUA IMPORTÂNCIA PARA O ABASTECIMENTO.....	5
TABELA 02 – PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS ÁCIDO HÚMICOS.	16
TABELA 03 – PRINCIPAIS VANTAGENS E DESVANTAGENS ASSOCIADAS À DESINFECÇÃO POR CLORAÇÃO	20
TABELA 04 – VALORES GUIA PARA A PRESENÇA DE THM EM ÁGUA POTÁVEL.	25
TABELA 05 – FATORES E NÍVEIS DO PLANEJAMENTO 2 ⁵⁻¹ TESTADOS PARA A ANÁLISE DA FORMAÇÃO DE THM	34
TABELA 06 – CONDIÇÕES DE REAÇÃO PARA AVALIAÇÃO CINÉTICA DO PROCESSO DE FORMAÇÃO DE THM	35
TABELA 07 – FATORES E NÍVEIS DO PLANEJAMENTO 2 ² TESTADOS PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO COM UVC NA FORMAÇÃO DE THM.....	36
TABELA 08 – CONDIÇÕES DE REAÇÃO PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA ESTRUTURA DO ÁCIDO HÚMICO...	37
TABELA 09 – CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE THM.	38
TABELA 10 – ANÁLISE ELEMENTAR, EM DUPLICATA, DO ÁCIDO HÚMICO	40
TABELA 11 – LIMITES DE DETECÇÃO (LD) E DE QUANTIFICAÇÃO (LQ) PARA OS QUATRO THM ESTUDADOS	52
TABELA 12 – PLANEJAMENTO FRACIONÁRIO 2 ⁵⁻¹ PARA A ANÁLISE DA FORMAÇÃO DE THM.....	54
TABELA 13 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2 ⁵⁻¹ UTILIZADO PARA AVALIAR A DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO DURANTE O PROCESSO DE CLORAÇÃO E FORMAÇÃO DE THM A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO	55

TABELA 14 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA O SINAL DE FLUORESCÊNCIA. OS EFEITOS SIGNIFICATIVOS ENCONTRAM-SE DESTACADOS EM NEGRITO.....	56
TABELA 15 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^{5-1} DURANTE O PROCESSO DE CLORAÇÃO E FORMAÇÃO DE THM ($\mu\text{g L}^{-1}$) A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO.....	58
TABELA 16 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO CLOROFÓRMIO.....	59
TABELA 17 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO BROMODICLOROMETANO.....	62
TABELA 18 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO DIBROMOCLOROMETANO.....	63
TABELA 19 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO BROMOFÓRMIO.....	65
TABELA 20 – PARÂMETROS DAS EQUAÇÕES DO TIPO “ $y = ae^{bx} + c$ ” QUE EXPLICAM AS CURVAS DA MODELAGEM DE DECAIMENTO EXPONENCIAL DE PRIMEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DE THM EM FUNÇÃO DO TEMPO	68
TABELA 21 – PLANEJAMENTOS FRACIONÁRIOS 2^2 PARA A ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UVC NA FORMAÇÃO DOS THM.....	76
TABELA 22 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UVC NA FORMAÇÃO DE THM A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO SEM BROMO (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$)	77
TABELA 23 – EFEITOS PRINCIPAIS E DE SEGUNDA ORDEM CALCULADOS COM BASE NO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A FORMAÇÃO DE THM APÓS UM PRÉ-TRATAMENTO COM RADIAÇÃO UVC EM UMA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO SEM A ADIÇÃO DE ÍONS BROMETOS (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$).....	77
TABELA 24 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UVC NA FORMAÇÃO DE THM	

A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO CONTENDO BROMO (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$)	79
TABELA 25 – EFEITOS PRINCIPAIS E DE SEGUNDA ORDEM CALCULADOS COM BASE NO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A FORMAÇÃO DE THM APÓS UM PRÉ-TRATAMENTO COM RADIAÇÃO UVC EM UMA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO COM A ADIÇÃO DE ÍONS BROMETOS (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$).....	79

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

3D	- Tridimensional
AH	- Ácido Húmico
ANVISA	- Agência Nacional de Vigilância Sanitária
DPD	- N,N-dietil-p-fenilenodiamina
ECD	- Detector de Captura de Elétrons
FTIR-DRIFTS	- Espectroscopia de Infravermelho com transformada de Fourier e Reflectância Difusa
FUNASA	- Fundação Nacional de Saúde
GC	- Cromatografia em fase Gasosa
HS	- <i>Headspace</i>
HS-GC-ECD	- Cromatografia em fase gasosa com detector de captura de elétrons e injeção por <i>Headspace</i>
IARC	- Agência Internacional de Pesquisas em Câncer (<i>International Agency for Research on Cancer</i>)
IBGE	- Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística
IV	- Infravermelho
LD	- Limite de Detecção
LQ	- Limite de Quantificação
MON	- Matéria Orgânica Natural
MS	- Espectrometria de Massas
OMS	- Organização Mundial da Saúde
pKa	- Logaritmo da constante de acidez
PNSB	- Pesquisa Nacional de Saneamento Básico
R ²	- Coeficiente de Determinação
s	- Estimativa de Desvio Padrão
SEAR	- Sudeste Asiático
SESI/SENAI	- Serviço Social da Indústria/Serviço Nacional de Aprendizagem Industrial
SPD	- Subprodutos de Desinfecção
SUS	- Sistema Único de Saúde

t	- Coeficiente de Student
T	- Temperatura
TCD	- Detector de Condutividade Térmica
THM	- Tri-halometanos
UV	- Ultravioleta
UVA	- Radiação Ultravioleta 320 – 400 nm
UVB	- Radiação Ultravioleta 280 – 320 nm
UVC	- Radiação Ultravioleta 100 – 280 nm
UVV	- Ultravioleta a Vácuo
UV-VIS	- Espectrofotometria na região ultravioleta-visível
VMP	- Valor Máximo Permitido
WHO	- Organização Mundial da Saúde (<i>World Health Organization</i>)
WPR	- Pacífico Ocidental

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	4
2.1 Desinfecção da água.....	4
2.2 Matéria orgânica presente na água e formação de subprodutos de desinfecção	8
2.3 Técnicas de caracterização de substâncias húmicas	11
2.3.1 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-VIS)	12
2.3.2 Espectroscopia de Fluorescência Molecular	13
2.3.3 Espectroscopia Vibracional, ou na Região do Infravermelho (IV)	15
2.4 Cloração da água e seus subprodutos	17
2.4.1 Tri-halometanos	20
2.4.2 Determinação de tri-halometanos em águas	26
2.5 Outras Formas de Desinfecção	27
2.5.1 Radiação Ultravioleta	27
3 OBJETIVOS.....	31
3.1 Objetivo Geral	31
3.2 Objetivos Específicos	31
4 MATERIAIS E MÉTODOS	32
4.1 Materiais e Reagentes.....	32
4.2 Estudos preliminares – caracterização do ácido húmico modelo.....	32
4.3 Formação dos tri-halometanos em ensaios de cloração.....	34
4.3.1 Estudo cinético da formação dos tri-halometanos	35
4.4 Pré-tratamento com radiação Ultravioleta na formação dos tri-halometanos	36
4.4.1 Influência da radiação Ultravioleta na estrutura do Ácido Húmico	37
4.5 Controle analítico	37
4.5.1. Espectrometria	37
4.5.2 Determinação cromatográfica de THM.....	38
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
5.1 Caracterização do ácido húmico	40
5.1.1 Análise Elementar C, H, N.....	40
5.1.2 Espectrometria Ultravioleta-Visível.....	41
5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência Molecular	43

5.1.4 Espectroscopia vibracional.....	48
5.2 Determinação de tri-halometanos por CG-DCE.....	49
5.3 Formação de Tri-halometanos.....	53
5.3.1 Cinética de formação dos Tri-halometanos	65
5.4 Influência da radiação Ultravioleta na estrutura do Ácido Húmico	73
5.4.1 Pré-tratamento com radiação Ultravioleta na formação dos Tri-halometanos..	76
6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES	81
REFERÊNCIAS	82

1 INTRODUÇÃO

Antes de oferecida à população, a água deve ser tornada potável, ou seja, não pode oferecer riscos à saúde humana, devendo ser isenta de microrganismos patógenos e de substâncias tóxicas, além de estar de acordo com a legislação vigente. Há registros históricos de cerca de 2000 a.C., em que já eram adotadas algumas medidas a fim de melhorar a qualidade da água a ser ingerida, mesmo sem se conhecer os princípios envolvidos no processo. Relatos de 500 a.C. já mencionavam a recomendação de se ferver a água antes de ingeri-la, evitando a transmissão de doenças de veiculação hídrica (DANIEL *et al*, 2001; BUCHANAN *et al*, 2005; BRASIL, 2006; KRISTIANA *et al*, 2009; BRASIL, 2011).

No Brasil, a Portaria 2.914 de 12 de dezembro de 2011 do Ministério da Saúde, dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade. Já no estado do Paraná, a lei 17.278 de 01 de agosto de 2012 dispõe sobre a redução do valor máximo permitido (VMP) para tri-halometanos e a fixação de valor para ácidos haloacéticos.

Com o objetivo de eliminar os microrganismos patógenos e de garantir a qualidade da água, desenvolveu-se o método de desinfecção por cloração. Este método foi considerado ideal durante muitas décadas, em razão da elevada capacidade de desinfecção do cloro, da sua toxicidade relativamente baixa (nas concentrações usualmente utilizadas), da facilidade de manuseio, do baixo custo, do seu elevado poder residual e da sua elevada capacidade na remoção de odores e de coloração. Contudo, na década de 1970 foi conhecida a formação de subprodutos a partir da cloração de águas que contêm matéria orgânica, enfatizando-se a formação de moléculas orgânicas halogenadas, os tri-halometanos (THM), algumas das quais apresentam reconhecido potencial carcinogênico (MEYER, 1994; TOMINAGA e MÍDIO, 1999; SANCHES *et al*, 2003; PEREIRA, 2007; WHO, 2008).

A evolução das publicações científicas relacionadas com a presença de THM em água é graficamente apresentada na FIGURA 01. De acordo com as informações coletadas, os primeiros trabalhos de monitoramento de THM em água e de investigação do seu efeito mutagênico foram publicados na década de 1970. Na década de 1980 destacam-se trabalhos epidemiológicos que correlacionam a presença e o consumo de THM com o surgimento de patologias, tipicamente neoplasias. Na

década de 1990 foram evidenciadas novas formas de exposição por meio da absorção de THM pelas mucosas em águas de piscina, enquanto na década de 2000 destacam-se artigos de revisão que tratam sobre a análise da água. Também, na década de 2000, foram publicados trabalhos relacionados à remoção de THM e com a caracterização de matéria orgânica precursora de THM. Finalmente, nos últimos anos tem sido frequente a publicação de trabalhos que relatam a presença de THM em alimentos, principalmente em função do uso de água contendo esse subproduto.

Em função destas constatações, grandes esforços têm sido dedicados à proposta de métodos alternativos de desinfecção, com destaque para o uso de ozônio (DOJLIDO *et al*, 1999; GUNTEN, 2003 (a); GUAY *et al*, 2005; HAMMES *et al*, 2006) e de radiação ultravioleta (UV) (BUCHANAN *et al*, 2006; VILHUNEN *et al*, 2010; CHANG *et al*, 2012; LIU *et al*, 2012; PENRU *et al*, 2012), processos que têm sido propostos para ação isolada ou como sistemas de pré-tratamento com potencial para eliminar os precursores da formação de THM, particularmente matéria orgânica dissolvida.

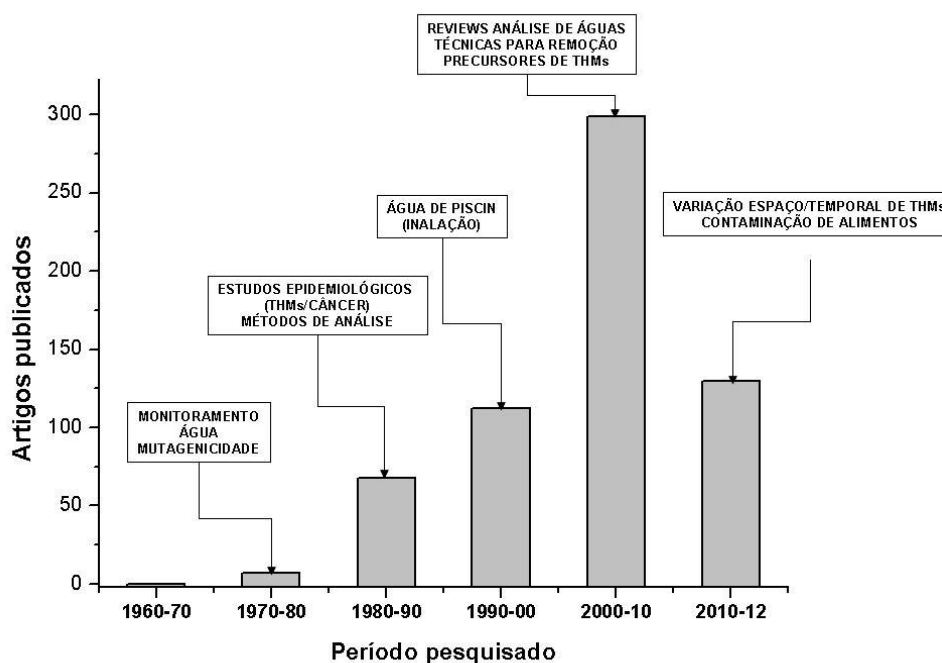


FIGURA 01 – EVOLUÇÃO DAS PUBLICAÇÕES CIENTÍFICAS EM RELAÇÃO À PRESENÇA DE TRIHALOMETANOS EM ÁGUA
 FONTE: SCIENCEDIRECT, PALAVRAS-CHAVE: TRIHALOMETHANES E WATER

A radiação UV apresenta bons resultados na inativação ou destruição de microrganismos, o que representa um dos principais objetivos do processo de desinfecção. Entretanto, o uso deste agente de desinfecção implica em maiores custos

operacionais e em menor ou nenhum efeito residual, característica esta última que muitas vezes obriga ao uso de cloração como sistema de pós-tratamento. Adicionalmente, é importante enfatizar que a ozonização e o tratamento por radiação UV também podem levar à formação de subprodutos tóxicos (MEYER, 1994; DAHLÉN *et al*, 1996; CORIN *et al*, 1996; SANCHES *et al*, 2003; GUNTEN, 2003 (b); HAMMES *et al*, 2006; WHO, 2008; LIU *et al*, 2012), o que praticamente obriga a realização de estudos sistemáticos de caracterização das águas tratadas.

Um diagrama que representa o histórico das propostas para desinfecção de água é apresentada na FIGURA 02. Enquanto a cloração é utilizada desde os primórdios da potabilização da água, o uso de ozônio, radiação UV e dióxido de cloro são bem mais recentes, praticamente coincidindo com a detecção de THM em águas submetidas à cloração. Propostas mais modernas envolvem o uso de técnicas de separação por membranas, usualmente micro-, ultra- e nano-filtração e osmose reversa, assim como sistemas fotoquímicos fundamentados no uso de radiação solar.

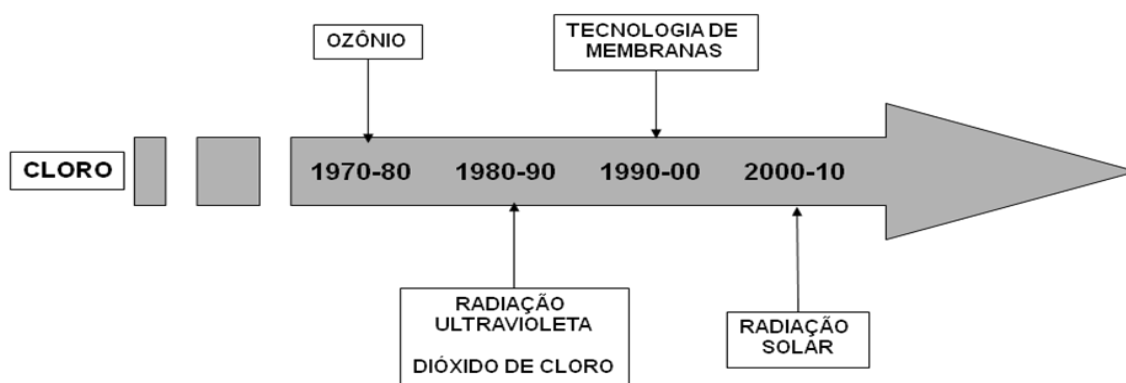


FIGURA 02 – EVOLUÇÃO DOS SISTEMAS DE DESINFECÇÃO DE ÁGUA E O PERÍODO TEMPORAL QUE MAIS FORAM PESQUISADOS

Na presente proposta de pesquisa objetivou-se estudar a formação de THM em processos de cloração, utilizando-se ácido húmico como composto modelo. Adicionalmente, objetivou-se verificar o efeito da radiação ultravioleta na geração de subprodutos com potencial tóxico relevante.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 DESINFECÇÃO DA ÁGUA

A água é essencial para o desenvolvimento e a manutenção da vida no planeta. Dentro do contexto do consumo humano, é importante que a qualidade deste vital elemento seja garantida, de maneira a não oferecer risco à saúde. Sendo assim, a desinfecção da água é crucial para a destruição ou inativação de organismos patogênicos e, conseqüentemente, para a prevenção de doenças associadas a sua presença (BRASIL, 2006; KRISTIANA *et al*, 2009).

Dentre as doenças de veiculação hídrica destacam-se a cólera, a hepatite infecciosa e outras associadas à presença de bactérias, vírus e protozoários, usualmente associadas à contaminação por fezes humanas. Os principais microrganismos patogênicos causadores de doenças de veiculação hídrica são apresentados na TABELA 01, na qual também foi incluída a sua resistência frente à cloração.

Além das anteriormente destacadas, são relevantes algumas doenças relacionadas a verminoses, incluindo esquistossomose (*Schistosoma mansoni*), ancilostomíase (amarelão), teníase (solitária) e ascaridíase (*Ascaris lumbricoides*) (MEYER, 1994; DANIEL *et al*, 2001; BRASIL, 2006; PEREIRA, 2007; WHO, 2008).

Dessa forma, para a água se tornar potável é necessária uma sequência de processos, usualmente físicos (como filtração e sedimentação) e químicos (como floculação), que objetivam basicamente a eliminação de sólidos suspensos, cor e matéria orgânica, assim como o enquadramento da água nos padrões da legislação vigente. Adicionalmente, utilizam-se processos específicos para desinfecção, os quais podem ser classificados em processos físicos, usualmente representados pela aplicação de calor e radiação UV, e processos químicos, fundamentados no uso de espécies metálicas, como cobre e prata, compostos alcalinos, tensoativos, como sais de amônia quaternários, e agentes oxidantes, como halogênios, ozônio e outros compostos orgânicos e inorgânicos (MEYER, 1994).

TABELA 01 – ORGANISMOS PATOGENICOS DE VEICULAÇÃO HÍDRICA E TRANSMISSÃO FECAL-ORAL E SUA IMPORTÂNCIA PARA O ABASTECIMENTO

Agente patogênico	Importância para a saúde	Persistência na água ^a	Resistência ao cloro ^b	Dose infecciosa ^c
BACTÉRIA				
<i>Campylobacter jejuni</i> , <i>C. coli</i>	Considerável	Moderada	Baixa	Moderada
<i>Escherichia coli</i> patogênica	Considerável	Moderada	Baixa	Alta
<i>Salmonella typhii</i>	Considerável	Moderada	Baixa	Alta ^d
Outras salmonelas	Considerável	Prolongada	Baixa	Alta
<i>Shigella spp.</i>	Considerável	Breve	Baixa	Moderada
<i>Vibrio cholerae</i>	Considerável	Breve	Baixa	Alta
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Considerável	Prolongada	Baixa	Alta (?)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ^e	Moderada	Podem multiplicar-se	Moderada	Alta (?)
<i>Aeromonas spp.</i>	Moderada	Podem multiplicar-se	Baixa	Alta (?)
VÍRUS				
Adenovírus	Considerável	?	Moderada	Baixa
Enterovírus	Considerável	Prolongada	Moderada	Baixa
Hepatite A	Considerável	?	Moderada	Baixa
PROTOZOÁRIOS				
<i>Entamoeba histolytica</i>	Considerável	Moderada	Alta	Baixa
<i>Giardia lamblia</i>	Considerável	Moderada	Alta	Baixa
<i>Cryptosporidium parvum</i>	Considerável	Prolongada	Alta	Baixa

? Não conhecido ou não confirmado.

^a Período de detecção da fase infecciosa na água a 20 °C: breve, até uma semana; moderada, de uma semana a um mês; prolongada, mais de um mês;

^b Quando a fase infecciosa encontra-se em estado livre na água tratada com doses e tempos de contato tradicionais. Resistência moderada, o agente pode não acabar completamente destruído; resistência baixa, o agente acaba completamente destruído.

^c A dose necessária para causar infecção em 50 % dos voluntários adultos são; no caso de alguns vírus basta uma unidade infecciosa.

^d Segundo os resultados de experimentos com seres humanos voluntários.

^e A principal via de infecção é o contato cutâneo, porém pacientes com câncer ou imunodepressão podem ser infectados por via oral.

FONTE: Adaptado de BRASIL, 2006

Um esquema simplificado que representa o tratamento da água de consumo é apresentado na FIGURA 03.

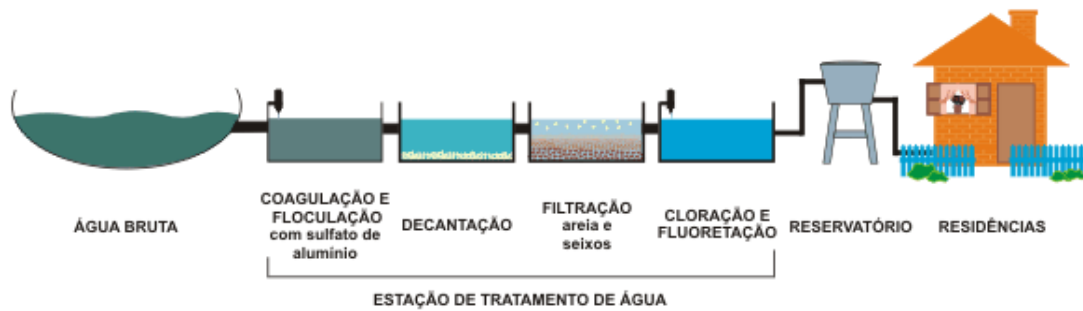


FIGURA 03 – REPRESENTAÇÃO SIMPLIFICADA DE UM SISTEMA BÁSICO DE POTABILIZAÇÃO DE ÁGUA

FONTE: SANEP, Serviço Autônomo de Saneamento de Pelotas, 2014

Em nível mundial, a Organização Mundial de Saúde (OMS) é responsável por liderar questões de saúde global, moldando a agenda de pesquisas em saúde, estabelecendo normas e padrões, avaliando tendências da saúde mundial e oferecendo apoio técnico aos países. Sendo assim, a OMS realiza inúmeras pesquisas referentes ao perfil da qualidade da saúde em todos os continentes. Neste contexto, foi publicado em 2013 um catálogo denominado “Estatísticas da Saúde Mundial”, no qual se destacam as informações sumarizadas na FIGURA 04, que relaciona a porcentagem da população com acesso a fonte de água potável e saneamento básico. Esta ilustração demonstra melhorias em todas as regiões avaliadas, principalmente no sudeste asiático (SEAR) e no pacífico ocidental (WPR), onde foram observadas melhorias superiores a 20 % em ambas as avaliações, entre 1991 e 2011.

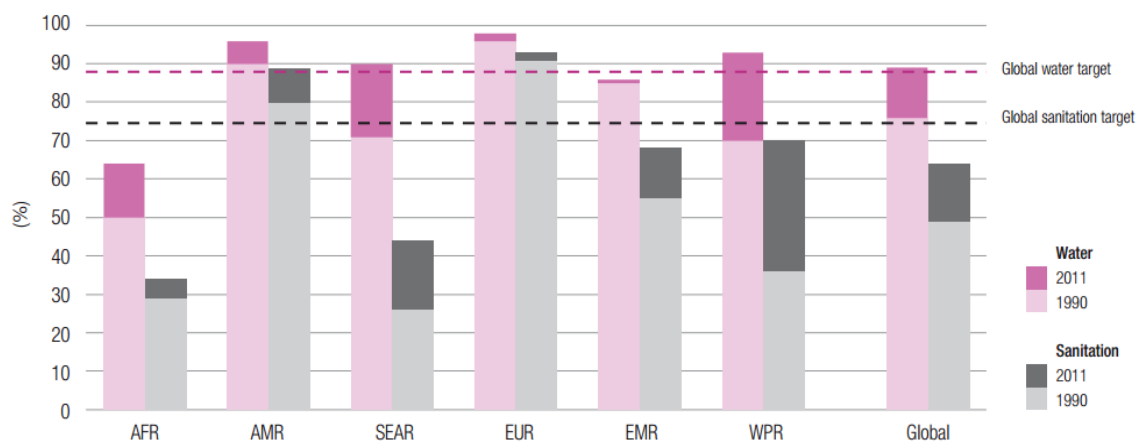


FIGURA 04 – PROPORÇÃO DA POPULAÇÃO COM ACESSO À FONTE DE ÁGUA POTÁVEL E SANEAMENTO BÁSICO NO ANO DE 1991 E DE 2011; ONDE TEM-SE: AFR = REGIÃO DA AFRICA; AMR = REGIÃO DAS AMÉRICAS; SEAR = REGIÃO DO SUDESTE ASIÁTICO; EUR = REGIÃO DA EUROPA; EMR = REGIÃO DO MEDITERRÂNEO OIENTAL; WPR = REGIÃO DO PACÍFICO OCIDENTAL

FONTE: WHO, 2013

Em relação ao quadro brasileiro, a Pesquisa Nacional de Saneamento Básico (PNSB), edição 2008 (IBGE, 2010), revela que entre 1989 e 2008 houve um aumento de 3,5 % no número de municípios atendidos por rede de abastecimento de água. Entretanto, no Brasil ainda ocorre a distribuição de água sem tratamento, problema que é particularmente crítico na região norte, onde aproximadamente 26 % da população não tem acesso a água tratada (FIGURA 05).

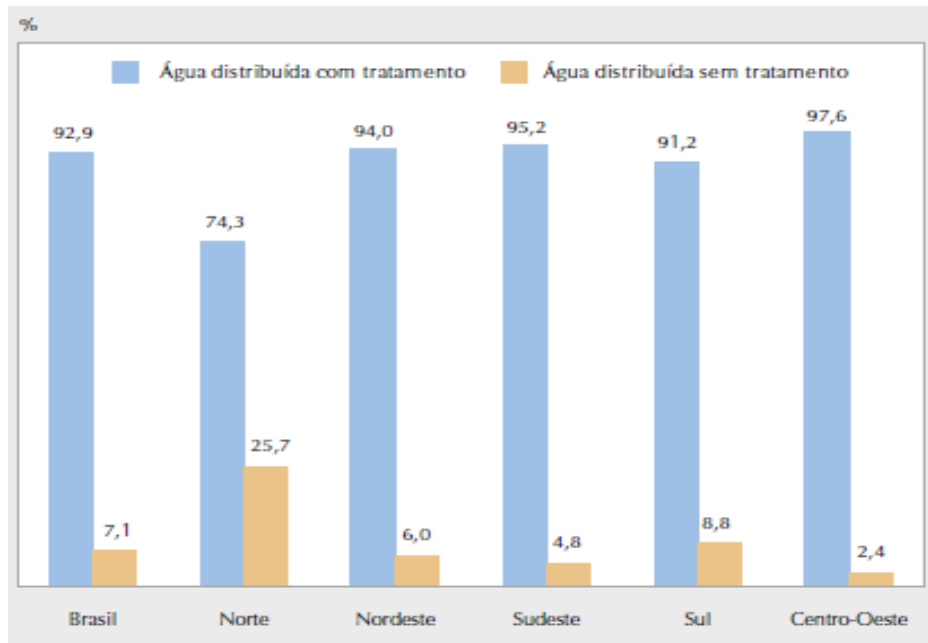


FIGURA 05 – PROPORÇÃO DO VOLUME DE ÁGUA DISTRIBUÍDA POR DIA, TRATADA E SEM TRATAMENTO, NAS GRANDES REGIÕES DO BRASIL NO ANO DE 2008
FONTE: IBGE, 2010

Segundo informações da Fundação Nacional de Saúde – FUNASA (Brasil, 2007), os principais problemas encontrados no setor de abastecimento de água estão relacionados com instalações de abastecimento em mau estado, deficiência no projeto e falta de manutenção adequada. Adicionalmente, as informações da FUNASA indicam uma crescente contaminação de águas superficiais e subterrâneas por de sistemas de esgotamento sanitário com infraestrutura deficiente, ausência de depuração de águas residuárias, urbanas e industriais, e também através do inadequado tratamento dos resíduos sólidos.

Como mencionado anteriormente, a falta de saneamento reflete diretamente na saúde humana, principalmente no que diz respeito ao custo do tratamento e ao número de óbitos relacionados a doenças de veiculação hídrica. De acordo com informações do DATASUS, entre 2008 e 2013, somente no estado do Paraná foram gastos mais de

44 milhões de reais em custos hospitalares para o atendimento a pessoas com doenças infecciosas e parasitárias de veiculação hídrica. Vale ressaltar que esses dados são referentes aos casos registrados apenas na rede pública, através do atendimento do Sistema Único de Saúde – SUS. Em nível nacional o valor gasto foi de 789 milhões de reais, com grande destaque para a região norte e nordeste que foram atendidas por mais da metade deste valor (DATASUS, 2014).

Esse panorama demonstra a importância da desinfecção de águas de abastecimento, associada a sistemas de saneamento básico adequados, pois o melhoramento destes dois fatores é fundamental para reduzir a incidência de doenças de veiculação hídrica, e consequentemente os gastos com o tratamento destas doenças.

2.2 MATÉRIA ORGÂNICA PRESENTE NA ÁGUA E FORMAÇÃO DE SUBPRODUTOS DE DESINFECÇÃO

No solo, a matéria orgânica desempenha um papel fundamental no crescimento de plantas e seres vivos. Usualmente, são materiais resistentes à degradação, sendo oriundos principalmente da decomposição de tecidos de plantas, metabolismo e catabolismo de microrganismo. Além do solo, a matéria orgânica natural (MON) também está presente nas águas, onde é caracterizada por uma mistura de vários compostos com diferentes propriedades químicas, dentre elas as denominadas substâncias húmicas (PICOLO, 2002; SANTOS Jr, 2003; SANCHES *et al*, 2007; LU *et al*, 2009).

Em geral, estima-se que a MON compreenda uma complexa mistura heterogênea de compostos orgânicos, incluindo hidrocarbonetos alifáticos e compostos aromáticos, moléculas hidrofílicas e hidrofóbicas, espécies polifenólicas, hidratos de carbono, proteínas e aminoácidos, as quais representam mais da metade do todo o carbono orgânico dissolvido presente na água (PICCOLO, 2002; SANCHES *et al*, 2003; NIKOLAOU *et al*, 2004; CUNHA *et al*, 2007; KRISTIANA *et al*, 2009; MATILAINEN *et al*, 2011). Nos processos de desinfecção de águas para potabilização, a MON representa um importante fator de qualidade a ser monitorado, uma vez que, em função da

heterogeneidade de sua estrutura, reage com os desinfetantes, gerando produtos indesejáveis, denominados subprodutos de desinfecção (SPD).

As substâncias húmicas, cujas cores variam do marrom escuro ao preto, podem ser divididas em três grupos, de acordo com a sua solubilidade em água em função do pH. Assim, a Humina corresponde à fração insolúvel na água em toda a faixa de pH, enquanto que os Ácidos Fúlvicos correspondem à fração solúvel em toda a faixa de pH. Por sua vez, os Ácidos Húmicos, correspondem à fração solúvel em pH básico e totalmente insolúvel em pH abaixo de 2 (THURMAN *et al*, 1982; PICCOLO, 2002; SANTOS Jr, 2003; HUDSON *et al*, 2007; PEREIRA, 2007).

Santos Jr. (2003) ressalta que as substâncias húmicas são conhecidas desde antes de 1800, contudo a sua estrutura e propriedades químicas ainda estão sendo estudadas, pois, uma das consequências da heterogeneidade na molécula é a dificuldade em definir uma estrutura molecular para estes compostos. Stevenson (1982) propôs uma estrutura para o ácido húmico em que é possível observar a heterogeneidade da molécula, bem como os inúmeros grupos funcionais, conforme apresentado na FIGURA 06.

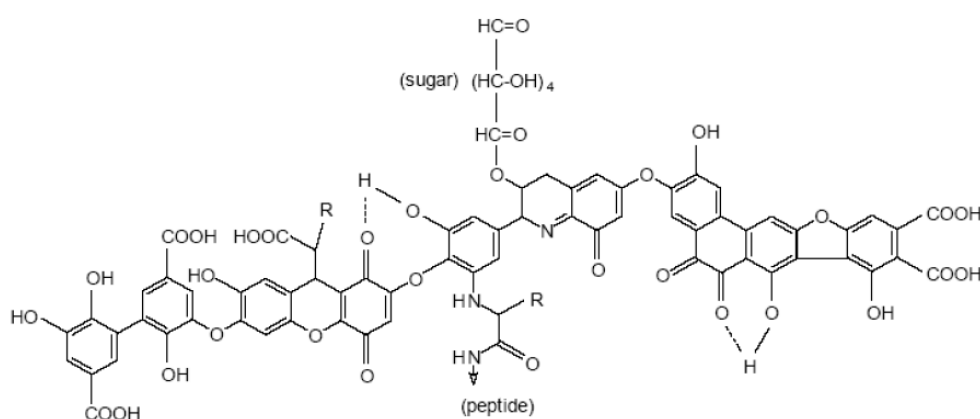


FIGURA 06 – PROPOSTA DE ESTRUTURA PARCIAL DO ÁCIDO HÚMICO
FONTE: STEVENSON, 1982

Dez anos mais tarde, Schulten e Schnitzer (1993)¹ (apud SANTOS JR, 2003) também propuseram uma estrutura para o ácido húmico (FIGURA 07), destacando uma estrutura molecular ainda mais complexa.

¹ SCHULTEN, H. R.; SCHNITZER, M.; **A state of art structural concept for the humic substances.** Naturwissenschaften, New York, v.80, p. 29-30, 1993.

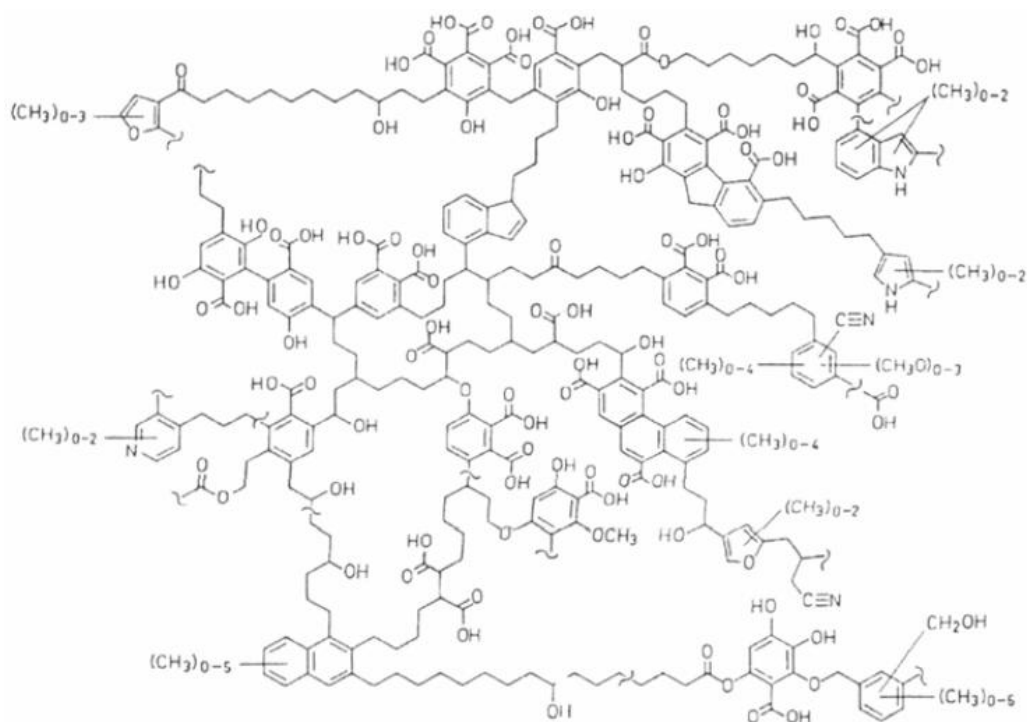


FIGURA 07 – MODELO DE ÁCIDO HÚMICO PROPOSTO POR SCHULTEN E SCHNITZER EM 1993
 FONTE: SANTOS JR. (2003)

De acordo com Piccolo (2002)^{2 3}, os primeiros estudos especulavam que as substâncias húmicas eram resultados da formação de diversos polímeros, cujo processo de formação assemelha-se à formação de outras macromoléculas biológicas, como, por exemplo, a lignina e os polissacarídeos. Contudo, esta teoria não é totalmente aceita por vários pesquisadores, entre eles Piccolo, que propôs que as substâncias húmicas são entidades moleculares que resultam da associação espontânea de um grande e indefinido número de componentes para uma determinada fase, e que apresentam, microscopicamente, certa organização estrutural e características macroscópicas que dependem de sua natureza (filmes, camadas, membranas, micelas, entre outras). Essa teoria é chamada de Teoria Supramolecular, e associa o comportamento das classes de substâncias húmicas às ligações intermoleculares existentes.

² KONONOVA, M. M.; **Soil organic matter: Its nature, Its role in soil formation and in soil fertility**. New York: Pergamon Press, 2 ed. 1966.

³ DUBACH, P.; METHA, N. C.; **The chemistry of soil humic substances**. Soils Fertil, n° 23, 1963, p. 293 – 300.

De acordo com a Teoria Supramolecular, o tamanho e os grupos funcionais existentes em cada fração das substâncias húmicas explicam os diferentes comportamentos da solubilidade destes compostos em água em função do pH. Os ácidos fúlvicos são associações de pequenas moléculas hidrofílicas, nas quais existem grupos funcionais ácidos o suficiente para manter os conjuntos fúlvicos dispersos em solução independentemente do pH. Por outro lado, os ácidos húmicos são predominantemente compostos por cadeias hidrofóbicas menores, tais como ácidos graxos e compostos esteroides, que são estabilizados em pH neutro por forças dispersivas hidrofóbicas (Van der Waals, π - π , e ligações CH – π). Assim, em pH neutro, ou mais alcalino, há a tendência do aumento do tamanho dessa conformação (orientação espacial), contudo com, a diminuição do pH as ligações de hidrogênio se rompem e consequentemente há a floculação deste agregado.

Referidas substâncias húmicas são difíceis de serem removidas pelas rotinas convencionais de tratamento da água, permanecendo na água como precursoras na formação de subprodutos de desinfecção (PANYAPINYOPOL *et al*, 2005; UYAK *et al*, 2005). A este respeito, Pereira (2007) admite que os ácidos húmicos e fúlvicos apresentem maior preponderância na formação dos subprodutos de desinfecção, não tendo sido encontrados relatos na literatura que relacionem a humina à formação desses subprodutos.

2.3 TÉCNICAS DE CARACTERIZAÇÃO DE SUBSTÂNCIAS HÚMICAS

De maneira geral, observa-se que grande parte dos trabalhos orientados a elucidar estruturalmente os materiais húmicos envolvem o estudo dos ácidos húmicos, principalmente em razão de ser a fração mais facilmente extraída (precipitação em pH ácido) e de apresentar uma maior relação com a identidade do solo (AZEVEDO e NOZAKI, 2008; CUNHA *et al*, 2007; CUNHA *et al*, 2009; FONTANA, 2006).

Uma forma de caracterizar estas substâncias é através das análises espectroscópicas, que se baseiam na interação da matéria com a radiação eletromagnética, em suas diferentes regiões. Dentro deste contexto, destaque deve ser dado à espectroscopia ultravioleta-visível (UV-VIS), infravermelho (IV) e de fluorescência molecular, as quais podem fornecer informações sobre a estrutura

química da substância, usualmente permitindo sensibilidade compatível com as necessidades deste tipo de análise (NOVOTNY, 1997; CHEN *et al*, 2002; SKOOG *et al*, 2002; FONTANA, 2006; CUNHA *et al*, 2007; SANCHES *et al*, 2007; FONTANA 2009; FASUROVÁ e POSPÍŠILOVÁ, 2010; MATILAINEN *et al*, 2011; PRIMO *et al*, 2011).

2.3.1 Espectroscopia na Região do Ultravioleta-Visível (UV-VIS)

A espectroscopia UV-VIS se fundamenta na absorção de radiação pelas moléculas, o que resulta em transições eletrônicas envolvendo elétrons de valência. De acordo com Skoog e colaboradores (2002), “todos os compostos orgânicos são capazes de absorver radiação eletromagnética, porque todos contêm elétrons de valência que podem ser excitados a níveis de energia mais altos.” Consequentemente, os ácidos húmicos apresentam uma forte absorbância na região do UV-VIS (190 a 800 nm), absorção esta principalmente associada a grupos de átomos com ligações não saturadas, denominados cromóforos (CHEN *et al*, 2002; SKOOG *et al*, 2002; FONTANA, 2006).

Em um espectro UV-VIS característico de substâncias húmicas é possível observar uma elevada absorção na região ultravioleta, usualmente atribuída à presença de grupos carboxílicos e aromáticos com diferentes graus de ativação (220-254 nm). Para maiores valores de comprimento de onda se observa uma progressiva diminuição na absorbância, tal como relatado por Fontana (2006) e Primo *et al* (2011), bem como observado nos resultados publicados por Chen *et al* (2002), Cunha *et al* (2007), Cunha *et al* (2009) e Fasurová e Pospíšilová (2010). Contudo, é necessário levar em conta que, em função dos ácidos húmicos não apresentarem uma estrutura determinada, grandes variações podem ocorrer em relação a diversos grupos cromóforos, o que pode ocasionar uma significativa variação nos espectros, em função do aparecimento de bandas, da diminuição da intensidade de absorção em determinados comprimentos de onda, dentre outros efeitos possíveis (MATILAINEN *et al*, 2011).

Uma das principais razões para se utilizar esta técnica para a caracterização de substâncias húmicas é a possibilidade de medir o grau de humificação, que está relacionada à aromaticidade e ao grau de condensação da cadeia carbônica dos ácidos húmicos. Com este objetivo, é comum utilizar a relação da absorbância em dois

comprimentos de onda específicos, comumente 465 e 665 nm (E_4/E_6), 350 e 550 nm (E_3/E_5), como utilizada por Dick *et al* (1998), ou ainda 250 e 365 nm (E_2/E_3), como utilizada por Sodré (2005).

Como salientado por Schnitzer e Khan (1989), estas razões não estão relacionadas com a concentração do material húmico, mas sim com a região e o tipo de solo de onde este material húmico foi extraído e isolado. Assim, admite-se que menores valores destas razões implicam um maior número de anéis aromáticos condensados.

Chen *et al* (1977)⁴ (apud STEVENSON, 1982) sugerem que a razão E_4/E_6 esteja relacionada ao tamanho das moléculas, peso molecular, quantidade de carbono, oxigênio e acidez total. Stevenson (1982) complementa que há uma relação inversa entre esta razão e o tempo de residência (humificação). Ou seja, maiores razões E_4/E_6 são características de substâncias húmicas com menor tempo de humificação, o que indica que substâncias húmicas oriundas de solos de origens geológicas mais antigas apresentam maior condensação aromática e consequentemente menor razão E_4/E_6 .

Adicionalmente, Fontana (2009) e Hudson *et al* (2007) afirmam que os valores da relação E_4/E_6 são fortemente influenciados pelo clima, vegetação, composição orgânica, nutrientes e o ambiente de formação, fatores estes que interferem na formação do solo, justificando a variação deste valor (SCHNITZER e KHAN, 1989; PICCOLO *et al*, 1992; DICK *et al* 1998; CHEN *et al*, 2002; SODRÉ, 2005; FONTANA, 2006; SANCHES *et al*, 2007; FONTANA, 2009; CUNHA *et al*, 2009; PRIMO *et al*, 2011).

2.3.2 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

O fenômeno da fluorescência é similar ao observado na espectroscopia de UV-VIS. Isto é, está relacionado com absorção de energia e excitação de um elétron para um estado mais energizado.

Após absorção de um comprimento de onda característico, a molécula é promovida para um estado excitado singlete. Posteriormente a molécula perde energia

⁴ Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M.; **Information provided on humic substances by E4/E6 ratios.** Soil Science Society of America Journal, n°41, 1977, 352

por um processo de relaxação denominado cruzamento interno, que ocorre rapidamente e sem emissão de radiação. Finalmente, a molécula retorna ao seu estado fundamental, o que se acompanha de emissão de radiação na forma de fluorescência (SKOOG *et al*, 2002; HUDSON *et al*, 2007; RICHARD *et al*, 2011).

A espectroscopia de fluorescência molecular é um método rápido, sensível, não destrutivo e pode ser usado em análises quantitativas e qualitativas. Entretanto, na análise de amostras complexas é possível a ocorrência de interferência por parte da matriz, o que torna necessária a aplicação de métodos específicos de preparo. A técnica apresenta vasta aplicação na análise de moléculas orgânicas rígidas e ricas em elétrons π , por exemplo, aromáticas; o que a torna uma ferramenta valiosa na caracterização de substâncias húmicas. (SKOOG *et al*, 2002; HUDSON *et al*, 2007; RICHARD *et al*, 2011).

Skoog *et al* (2002) e Hudson *et al* (2007) relatam diversos fatores que podem afetar a intensidade da fluorescência, destacando, além da estrutura da molécula, o solvente, a presença de halogênios, a temperatura e o pH (SKOOG *et al*, 2002; CHEN *et al*, 2003; HENDERSON *et al*, 2009; MATILANIEN *et al*, 2011; PRIMO *et al*, 2011).

Os espectros de fluorescência podem ser adquiridos de três maneiras distintas: a) comprimento de onda fixo de emissão ou absorção (x) em função da intensidade (y); b) comprimento de onda de emissão (x) em função do comprimento de onda de absorção (y) – também conhecido como módulo sincronizado; c) em 3D, relacionando comprimento de onda de emissão (x), comprimento de onda de absorção (y) e intensidade (z) (SKOOG *et al*, 2002; PRIMO *et al*, 2011).

A espectroscopia de fluorescência molecular tem sido utilizada como uma ferramenta de monitoramento de alguns poluentes no meio ambiente (água, solo e ar), assim como de fatores associados à qualidade da água. Dentro deste contexto é possível destacar o monitoramento da presença de benzeno, tolueno e naftaleno em águas (KUZNIZ *et al*, 2007), de compostos aromáticos polinucleares (KUMKE *et al*, 1995), da concentração de hidrocarbonetos em águas salgadas e sedimentos (LAW, 1981), de benzo[α]pireno em solos (HUA *et al*, 2006) e da degradação fotocatalítica do ácido húmico (UYGUNER e BEKBOLET, 2005; VALENCIA *et al*, 2013).

Em relação às substâncias húmicas, diversos trabalhos de caracterização têm sido publicados na literatura especializada, principalmente envolvendo diversas frações da MON por meio de espectroscopia de fluorescência em modo sincronizado e em 3D

(ISMAILI *et al*, 1998; PEURAVUORI *et al*, 2002; CHEN *et al*, 2003; XIAOLI *et al*, 2012; HORST *et al*, 2013;).

Richard *et al* (2011) estudaram por meio da fluorescência as propriedades de frações de ácido húmico que apresentaram massa molecular menor que 5 kDa, e observaram, após sucessivas ultrafiltrações, que uma parte significativa dos grupos cromóforos estão nesta fração. Dessa forma, foi concluído que as frações fluorescentes de ácidos húmicos são as de médio e baixo peso molecular. Swietlik e Sirkorska (2004) utilizaram a espectroscopia de fluorescência em modo sincronizado como uma ferramenta para o monitoramento da mudança de estruturas na MON após cloração e ozonização. Neste estudo foi observado que a cloração com dióxido de cloro provoca a quebra de moléculas, a diminuição da aromaticidade e, em muitos casos, aumento da intensidade de fluorescência.

2.3.3 Espectroscopia Vibracional, ou na Região do Infravermelho (IV)

A espectroscopia infravermelho se fundamenta nos mesmos princípios que a espectroscopia UV-VIS e de fluorescência. Contudo, no infravermelho a energia fornecida é suficiente apenas para ocasionar vibrações nas ligações entre os átomos, não provocando excitação e transição de elétrons. Para que a molécula absorva a radiação infravermelha ela precisa sofrer uma variação no momento de dipolo, que pode ser ocasionada através de um movimento vibracional ou rotacional. Por conta disso, Silverstein *et al* (2007) e Skoog *et al* (2002) explicam que as vibrações moleculares podem ser classificadas em dois tipos: (a) deformação axial e (b) deformação angular. A primeira deformação está ligada ao movimento rítmico ao longo do eixo da ligação fazendo com que a distância entre os dois átomos aumente e diminua, sendo também conhecida como estiramento (simétrico e assimétrico); já a segunda deformação envolve uma alteração no ângulo da ligação em relação a um conjunto arbitrário de coordenadas da molécula (SKOOG *et al*, 2002; SILVERSTEIN *et al*, 2007; PRIMO *et al*, 2011).

Os espectros de infravermelho são considerados “impressões digitais” das substâncias, pois são muito característicos. Sendo assim é muito pouco provável que moléculas não enantiômeras exibam o mesmo espectro de infravermelho. Contudo,

certos grupos de átomos (independente da molécula em que estão) apresentam bandas na mesma região de frequência, podendo haver alguns deslocamentos. (SILVERSTEIN *et al*, 2007).

Dessa forma, as informações contidas em um espectro de infravermelho possibilitam caracterizar qualitativamente a estrutura das substâncias húmicas, em relação à presença de grupos funcionais na molécula. Porém, como dito anteriormente, as substâncias húmicas compreendem uma complexa mistura heterogênea de compostos orgânicos, o que pode acarretar na sobreposição de bandas e/ou no deslocamento das mesmas, necessitando então de uma análise minuciosa e de técnicas complementares para a sua caracterização.

As principais bandas de absorção na região do infravermelho das substâncias húmicas estão descritas na TABELA 02.

TABELA 02 – PRINCIPAIS BANDAS DE ABSORÇÃO NA REGIÃO DO INFRAVERMELHO DOS ÁCIDO HÚMICOS.

Frequência (cm ⁻¹)	Descrição
3600 – 3300	Estiramento O-H e N-H
3100 – 3030	Estiramento C-H em anéis aromáticos
3000 – 2840	Estiramento simétrico e assimétrico de C-H de alifáticos (CH ₂ e CH ₃)
2600 – 2400	Estiramento O-H do COOH
1740 – 1710	Estiramento C=O em COOH, cetonas, aldeídos e ésteres
1700 – 1630	Estiramento C=O e amidas primárias, quinonas, ligação H com C=O em cetonas conjugadas
1650 – 1600	Estiramento C=C em alifáticos
1545 – 1505	Estiramento C=C em anéis aromáticos
1550 – 1510	Deformação N-H e estiramento C=N em amida
1470 – 1420	Deformação assimétrica C-H em alifáticos (CH ₂ e CH ₃)
1420 – 1330	Deformação O-H e estiramento C-O fenólico
1300 – 1220	Deformação axial C-O em COOH, fenóis, alcoóis e éteres
1150 – 1000	Estiramento O-H alcoólico alifático e polissacarídeos
900 – 750	Deformação C-H de anel aromático (fora do plano) impurezas inorgânicas e/ou organometálicas

FONTE: PAIM *et al*, 1990; SHIN *et al*, 1999; FRANCIOSO *et al*, 2001; SENESI *et al* 2003; KIM *et al*, 2006; FONTANA, 2006; SAMIOS *et al*, 2007; SANCHES *et al*, 2007; SILVERSTEIN *et al*, 2007; SIÉLIÉCHI *et al*, 2008; DOBBS *et al*, 2009; FONTANA, 2009.

2.4 CLORAÇÃO DA ÁGUA E SEUS SUBPRODUTOS

No Brasil, a cloração é a principal forma de desinfecção da água, uma vez que o cloro atende a maioria das exigências necessárias para um agente desinfetante. Além de ter um baixo custo e ser de fácil transporte e armazenamento, é considerado atóxico nas concentrações usualmente utilizadas no tratamento da água. Adicionalmente, a cloração mostra um efeito muito satisfatório no que diz respeito à desinfecção, permitindo, ainda, um efeito residual que minimiza a recontaminação da água durante a sua distribuição (MEYER, 1994; BULL *et al*, 1995; SANCHES *et al*, 2003).

Em função da sua natureza química, o cloro apresenta duas ações principais. A primeira diz respeito à desinfecção, por meio da destruição e inativação de microrganismos patogênicos e da flora microbiana banal, enquanto que a segunda se relaciona com o seu potente efeito oxidante frente a compostos orgânicos e inorgânicos (MEYER, 1994; TOMINAGA e MÍDIO, 1999; SANCHES *et al*, 2003).

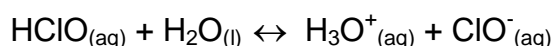
A cloração da água pode ser realizada através de diferentes técnicas, sendo que as mais comuns consistem na adição de gás cloro liquefeito (Cl_2), de solução de hipoclorito de sódio (NaClO) ou de grânulos de hipoclorito de cálcio ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$). Em todos os casos a concentração utilizada de cloro deve ser suficiente para que a oxidação ocorra rapidamente, além de permitir uma pequena concentração de cloro livre, ou cloro residual. Contudo, esta concentração deve ser rigorosamente controlada, de maneira a evitar alterações nas características sensoriais da água, assim como outras mudanças indesejáveis que são decorrentes do excesso de cloro. Em função destas necessidades, a legislação vigente brasileira define em $0,2 \text{ mg L}^{-1}$ a concentração mínima e em 5 mg L^{-1} a concentração máxima recomendada para o cloro livre na água tratada destinada ao abastecimento (WHO, 2008; BRASIL, 2011).

Quando o cloro é adicionado à água (livre de impurezas) ele reage rapidamente formando ácido hipocloroso e hipoclorito, conforme as reações apresentada a seguir (MEYER, 1994; PEREIRA, 2007; SANCHES *et al*, 2003):



Esta reação é fortemente influenciada pelo pH, sendo que, em geral, em valores de pH inferiores a 4 o equilíbrio é deslocado na direção da formação de cloro, diminuindo-se drasticamente a concentração de ácido hipocloroso em solução (MEYER, 1994).

O produto da reação anterior, HClO, é um ácido fraco, (pK_a aproximadamente 7,5) e sua dissociação ocorre em meio aquoso, produzindo íon hipoclorito e íon hidrônio (PEREIRA, 2007; SANCHES *et al*, 2003):



Tanto o ácido hipocloroso como o íon hipoclorito possuem ação desinfetante e oxidante, razão pela qual ambas as espécies são definidas como cloro residual livre (DEBORDE e VON GUNTEN, 2008; MEYER, 1994; SANCHES *et al*, 2003). O que determina a quantidade de cada espécie é o pH. Em pH inferiores a 6 há a predominância da forma não dissociada, HClO, enquanto a forma dissociada, ClO^- , é predominante quando o pH for próximo a 10, conforme ilustrado na FIGURA 08.

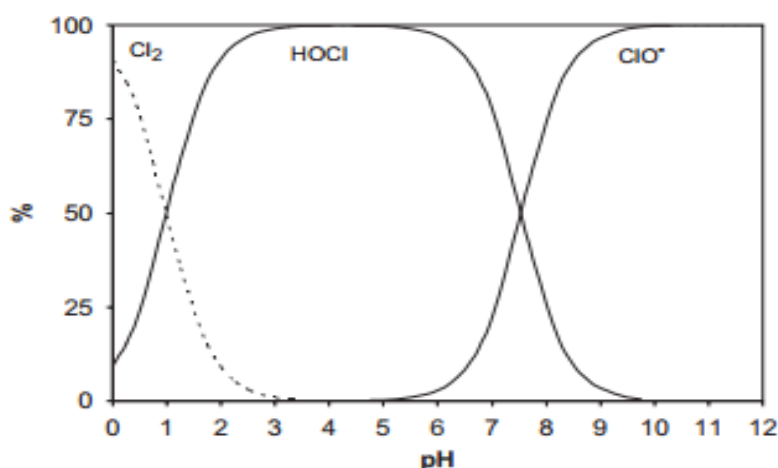


FIGURA 08 – DISTRIBUIÇÃO RELATIVA DAS ESPÉCIES AQUOSAS DE CLORO, EM FUNÇÃO DO pH A 25 °C E CONCENTRAÇÃO DE $5 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}$
FONTE: DEBORDE e VON GUNTEN, 2008

Nos processos de cloração, a presença de matéria orgânica natural (MON) nas águas resulta na formação de subprodutos clorados indesejáveis. De acordo com Richardson *et al* (2007), mais de 600 SUBPRODUTOS de desinfecção (SPD) da água

já foram identificados, destacando-se os listados a seguir (BULL *et al*, 1995; GARCIA-VILLANOVA *et al*, 1997; TOMINAGA e MÍDIO, 1999; PEREIRA, 2007):

- **Tri-halometanos:** clorofórmio, bromodiclorometano, dibromoclorometano, bromofórmio.
- **Ácidos Haloacéticos:** ác. monocloraacético, ác. dicloroacético, ác. tricloroacético, ác. monobromoacético, ác. dibromoacético, ác. bromocloroacético.
- **Haletos de Cianogênio:** cloreto de cianogênio, brometo de cianogênio.
- **Haloacetônitrilas:** dicloroacetônitrila, tricloroacetônitrila, dibromoacetônitrila, tribromoacetônitrila, bromocloroacetônitrila.
- **Halocetonas, haloaldeídos e halofenóis.**

Embora não haja compreensão definitiva sobre os mecanismos de formação destes SPD, estima-se que as reações ocorrem em diferentes grupos funcionais presentes na estrutura dos ácidos húmicos. Estes grupos funcionais por sua vez, reagem em velocidades diferentes com o cloro, sendo que o resorcinol (*m*-di-hidroxibenzeno), β -dicetonas e β -cetoácidos reagem muito rapidamente, e fenóis reagem na sequência, sendo estas estruturas presentes na MON as principais responsáveis pela formação de SUBPRODUTOS de desinfecção (GALLARD e GUNTEN, 2002). De acordo com Boyce e Hornig (1983), as reações predominantes são de substituição eletrofílica na presença de ácido hipo-haloso e de oxidação.

Em função das características acima comentadas, o uso do cloro como agente de desinfecção apresenta um conjunto de vantagens e desvantagens, as quais são resumidamente apresentadas na TABELA 03.

TABELA 03 – PRINCIPAIS VANTAGENS E DESVANTAGENS ASSOCIADAS À DESINFECÇÃO POR CLORAÇÃO

	VANTAGENS	DESVANTAGENS
CLORO	<ul style="list-style-type: none"> • Elevada eficiência na inativação de bactérias e vírus; • Efeito residual relativamente estável; • Baixo custo; • Manuseio relativamente simples; • Grande disponibilidade no mercado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Limitada eficiência na inativação de cistos e oocistos de protozoários e ovos de helmintos; • Na presença de MON pode formar compostos tóxicos, principalmente tri-halometanos; • Em doses elevadas pode produzir forte odor e sabor; • Alguns subprodutos, como clorofenóis, também provocam odor e sabor.

FONTE: ADAPTADO DE BRASIL, 2006

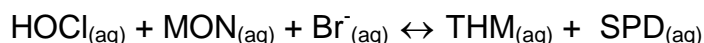
2.4.1 Tri-halometanos

São classificados como tri-halometanos (THM) os compostos que, na sua estrutura molecular, apresenta um átomo de carbono, um de hidrogênio e três de halogênios (que podem ser iguais ou diferentes) (SANCHES *et al*, 2003). THM podem ser formados em processos de desinfecção com cloro, principalmente por meio da reação com a matéria orgânica natural (MON), usualmente representada por ácidos húmicos.

Em geral, temperaturas mais elevadas favorecem a formação de THM, ao mesmo tempo em que favorecem a eliminação das espécies mais voláteis. Por sua vez, quanto mais elevado for o pH maior será a concentração de íon hipoclorito, o que aumenta a velocidade de reação com a matéria orgânica e favorece a geração de THM (MEYER, 1994; GARCIA-VILLANOVA *et al*, 1997; SANCHES *et al*, 2003; UYAK *et al*, 2005).

Outro fator envolvido na formação dos THM é a concentração do brometo ou iodeto em solução. Com a cloração, o brometo é oxidado a hipobromito, espécie mais reativa do que cloro frente a compostos orgânicos, o que favorece a formação de tri-halometanos bromados. O mesmo ocorre na presença de iodetos, embora menos comum, levando à formação de THM iodados. (GARCIA-VILLANOVA *et al*, 1997; SANCHES *et al*, 2003; WHO, 2008).

A formação de THM é genericamente representada pela reação apresentada a seguir, onde a sigla SPD representa outros subprodutos de degradação (TOMINAGA e MÍDIO, 1999; SANCHES *et al*, 2003; WHO, 2008):



Além de ser fortemente influenciada pela concentração do cloro, a formação dos THM é dependente da concentração e natureza da MON. Assim, estima-se que ácidos húmicos reagem rapidamente com cloro, contribuindo de maneira mais significativa do que os ácido fúlvicos na formação dos THM (MEYER, 1994; GARCIA-VILLANOVA *et al*, 1997; TOMINAGA e MÍDIO, 1999; MATILAINEN *et al*, 2011).

Assim, de acordo com Pavón *et al* (2008) a taxa de formação dos THM aumenta com o aumento da concentração do cloro, do ácido húmico, dos íons brometos e também se mostra dependente da temperatura e do pH.

Embora haja nove possíveis estruturas para THM (ver FIGURA 09), considera-se que somente quatro se apresentam em concentrações significativas na água potável: triclorometano (clorofórmio), tribromometano (bromofórmio), bromodiclorometano e dibromoclorometano. O clorofórmio é o THM mais comumente encontrado nas águas tratadas, contudo em águas que contenham íons brometos há o favorecimento na formação de THM bromados e em consequência uma diminuição proporcional na concentração de clorofórmio e aumento na concentração dos demais THM.

De acordo com Ramseier *et al* (2011) o mecanismo de formação de THM a partir de ácidos húmicos é especulativo. Entretanto, admite-se que a presença de estruturas tipo resorcinol apresente um papel importante, tal como proposto no mecanismo apresentado na FIGURA 10. É importante salientar que, mesmo na presença deste modelo simplificado, muitas espécies cloradas podem ser produzidas, incluindo, além de clorofórmio, o ácido 2-carboxi-3,5,5,5-tetracloro-4-oxo-2-pentenoíco como produto majoritário, o que demonstra a relevância das estruturas derivadas do resorcinol.

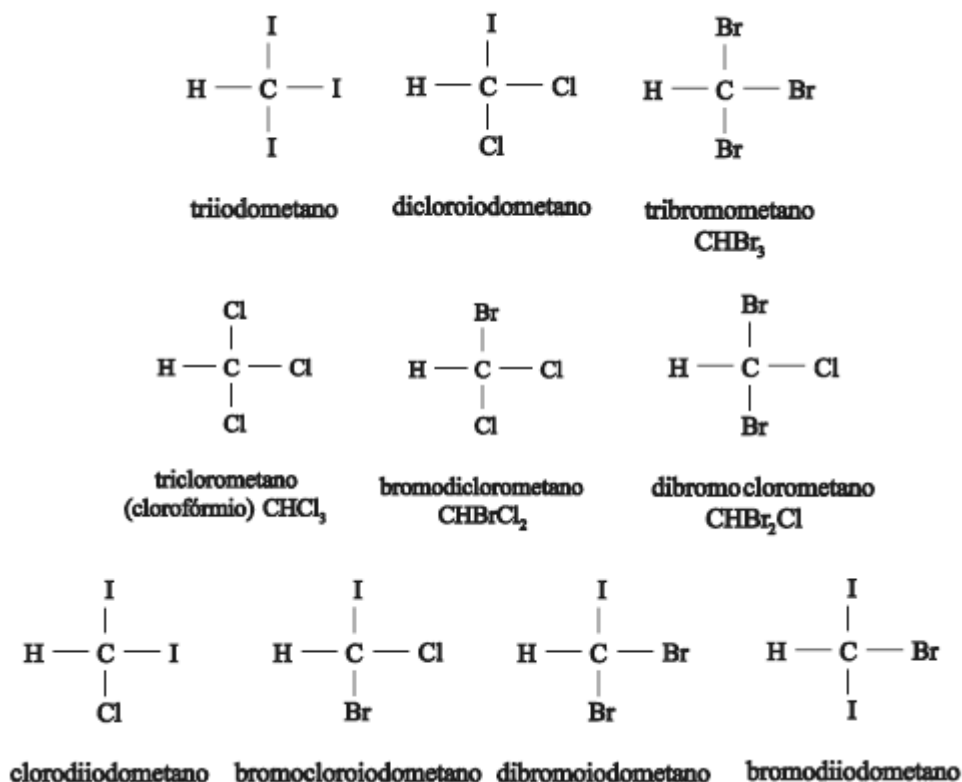


FIGURA 09 – TRI-HALOMETANOS PASSÍVEIS DE FORMAÇÃO DURANTE A CLORAÇÃO DA ÁGUA
 FONTE: MEYER, 1994

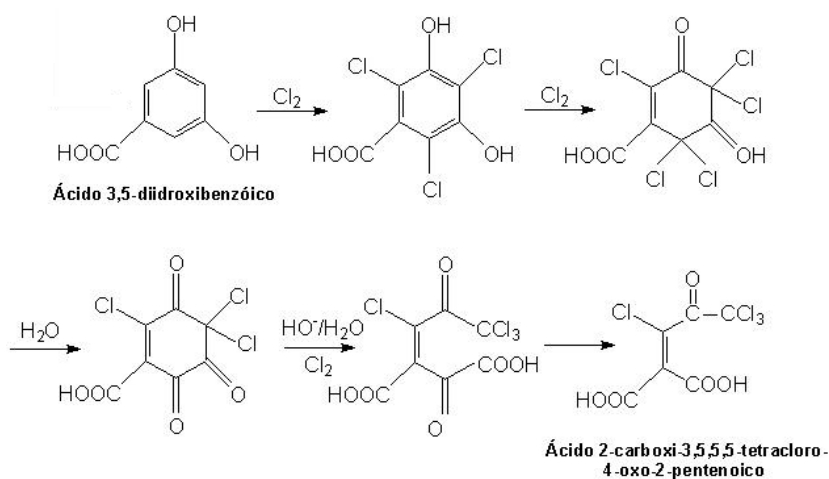


FIGURA 10 – PROPOSTA MECANÍSTICA PARA A FORMAÇÃO DE CLOROFÓRMIO A PARTIR DE
 ÁCIDO 3,5-DIIDRÓXIBENZÓICO
 FONTE: RAMSEIER *et al*, 2011

Outra proposta de mecanismo para a formação do clorofórmio envolve a metil-cetona como precursor orgânico descrito por Blatchey *et al*, 2003⁵ (apud PEREIRA, 2007). De acordo com esta proposta, a reação se processa por meio da formação de um enol que reage rapidamente com o ácido hipocloroso gerando um triclorometilcetona, a partir da qual é gerado o clorofórmio (FIGURA 11). De maneira geral, os mecanismos propostos na literatura somente descrevem a formação do clorofórmio, cuja origem depende apenas do precursor orgânico e da adição do hipoclorito. Os outros THM, com átomos de bromo, não são relatados.

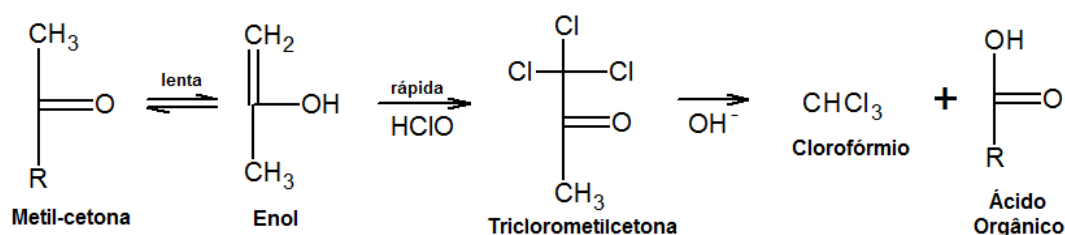


FIGURA 11 – FORMAÇÃO DO CLOROFÓRMIO ATRAVÉS DA METIL-CETONA
 FONTE: Adaptado de PEREIRA, 2007

A relevância no monitoramento de THM em águas de distribuição se dá pelo potencial tóxico destas moléculas. De acordo com documentos elaborados pela WHO (2008), o clorofórmio foi classificado no Grupo 2B pela Agência Internacional de Pesquisas em Câncer (do inglês, *International Agency for Research on Cancer – IARC*), sendo considerado como possivelmente cancerígeno para os seres humanos, principalmente em função de evidências suficientes de carcinogenicidade em animais experimentais. O efeito tóxico mais universalmente observado do clorofórmio é o dano à região centrolobular do fígado, sendo que a gravidade destes efeitos por dose unitária administrada depende da espécie de veículo e do método pelo qual o clorofórmio é administrado.

Embora o bromofórmio seja classificado no Grupo 3 pela IARC (não classificável quanto à sua carcinogenicidade para seres humanos), bioensaios sugerem a sua colaboração no aumento de tumores relativamente raros no intestino grosso de ratos de ambos os sexos. Estudos envolvendo dibromoclorometano sugerem a indução de tumores hepáticos em ratos fêmeas e em filhotes machos, mas não em ratos

⁵ BLATCHEY III, E.R.; MARGETAS, D.; DUGGIRALA, R.; **Cooper catalysis in chloroform formation during water chlorination**. *Water Research*, n°37, 2003, p.4385-4394.

adultos. A genotoxicidade do dibromoclorometano foi também estudada em vários ensaios, mas os dados disponíveis são considerados inconclusivos. Assim, este THM também é classificado no Grupo 3 pela IARC.

O bromodiclorometano é classificado no Grupo 2B pela IARC (possivelmente cancerígeno para os seres humanos), em função de resultados positivos e negativos em ensaios de genotoxicidade *in vitro* e *in vivo*. Em alguns ensaios envolvendo ratos foi observada a indução de adenocarcinomas, de tumores raros no intestino grosso e adenomas e adenocarcinomas hepatocelulares. Adicionalmente, a exposição a bromodiclorometano também tem sido associada a um possível aumento do risco de aborto espontâneo e ocorrência de natimortos.

Diversos trabalhos objetivaram avaliar a genotoxicidade, mutagenicidade e carcinogenicidade destes quatro compostos (BULL *et al* 1995; GOPAL *et al*, 2007; RICHARDSON *et al*, 2007; CHOWDHURY, 2013). Também há trabalhos que investigam a presença de THM em fluídos humanos como urina (CARO *et al*, 2007; CHARISIADIS e MAKRIS, 2014), sangue (AGGAZZOTTI *et al*, 1998; BATTERMAN *et al*, 2002), sêmen e soro sanguíneo (ZENG *et al*, 2013).

O risco de contaminação por THM não envolve apenas a ingestão de água contendo esses subprodutos, mas também a inalação e o contato dermal, principalmente em usuários de piscinas, mostram-se preocupantes, conforme estudos desenvolvidos por Bull *et al* (1995), Nokes *et al* (1999), Richardson *et al* (2007), Panyakapo *et al* (2008), Lee *et al* (2009), Thiriat *et al* (2009), Dyck *et al* (2011), Florentin *et al* (2011), Amjad *et al* (2013), Chowdhury (2013), Chowdhury (2014) e Maia *et al* (2014).

Outra preocupação é a ingestão indireta de THM, que se procede através da contaminação cruzada de alimentos com águas que contêm THM. Batterman e Huang (2010) estudaram a sorção dos THM em diversos alimentos, através da lavagem a temperatura ambiente (25 °C) e cozimento em temperaturas elevadas (90 °C), e observaram que nos experimentos de lavagem o espinafre apresentou maior sorção de THM em comparação aos demais vegetais estudados. Por outro lado, nos experimentos de cozimento, os alimentos que tiveram maiores taxas de sorção foram a sopa de tofu com miso e as carnes de gado e de galinha, concluindo-se então que diferentes alimentos apresentam diferentes comportamentos na sorção de THM.

Foi ainda na década de 1970 que o pesquisador R. H. Harris começou a desenvolver trabalhos que relacionavam o uso de cloro nas estações de tratamento de

água com a formação de compostos que poderiam ter efeitos negativos na saúde humana. Desde então, diversos países têm discutido os níveis máximos permitidos para estes compostos em água potável (MEYER, 1994; GARCIA-VILLANOVA *et al*, 1997; WHO, 2008).

No Brasil, a Portaria N° 2914/2011 do Ministério da Saúde é a legislação vigente que define as normas de qualidade da água para consumo humano, e determina a concentração máxima permitida de tri-halometanos totais em 0,1 mg L⁻¹. No estado do Paraná, a Lei Estadual 17.278/12 reduz a concentração máxima permitida de THM totais em 0,08 mg L⁻¹ (TABELA 04).

TABELA 04 – VALORES GUIA PARA A PRESENÇA DE THM EM ÁGUA POTÁVEL

Valores Máximos Recomendados - Organização Mundial da Saúde	
Clorofórmio	0,3 mg L ⁻¹
Bromofórmio	0,1 mg L ⁻¹
Dibromoclorometano	0,1 mg L ⁻¹
Bromodiclorometano	0,06 mg L ⁻¹
Valor Máximo Permitido – Legislação Brasileira	
THM totais	0,1 mg L ⁻¹
Valor Máximo Permitido – Legislação Paranaense	
THM totais	0,08 mg L ⁻¹

FONTE: WHO, 2008; BRASIL, 2011, PARANA, 2012

De acordo com Meyer (1994), a formação de THM pode ser minimizada através de algumas ações anteriores a cloração, as quais permitem reduzir a concentração dos precursores característicos. Dentre as operações mais importantes destacam-se a clarificação por precipitação/coagulação de sais de ferro e alumínio, a adsorção em carvão ativado granular e em pó, a absorção em resinas de troca iônica e a oxidação com agentes como ozônio, dióxido de cloro, permanganato de potássio, radiação ultravioleta e peróxido de hidrogênio, operações estas que objetivam reduzir a concentração de espécies orgânicas precursoras de THM, como ácidos húmicos e fúlvicos.

2.4.2 Determinação de tri-halometnos em águas

Em relação à determinação de THM em amostras de água, Pavón *et al* (2008) citam que a técnica mais utilizada é a cromatografia em fase gasosa (GC) combinada com uma etapa de pré-concentração (extração líquido-líquido, micro extração em fase sólida, *headspace*), pois THM são encontrados normalmente na ordem de ng e $\mu\text{g L}^{-1}$. Os detectores mais utilizados são o espectrômetro de massa (MS) e o detector de captura de elétrons (ECD).

Uma técnica bastante utilizada na pré-concentração e determinação de THM e demais compostos voláteis presentes na água é a técnica de *Headspace* (HS), que dispensa o uso de solventes e consiste no aquecimento da amostra para promover a volatilização do analito. É tomada então uma alíquota da fase vapor, que está em equilíbrio com a fase aquosa, e que juntamente com um fluxo de gás carrega a amostra para a coluna. As vantagens desta técnica são, além da boa repetibilidade, a possibilidade da análise de compostos voláteis sem a interferência de compostos não voláteis presentes na matriz, a diminuição do processo de preparo da amostra que tem como consequência uma diminuição de erros e principalmente a redução do uso de solventes orgânicos, pois o sistema *Headspace* pode ser acoplado diretamente ao sistema cromatográfico (KUIVINEN e JOHNSON, 1999; PAVÓN *et al*, 2008).

A cromatografia em fase gasosa (GC) se apresenta como uma técnica adequada para a separação de compostos voláteis, e segundo Pavón *et al* (2008) o tempo de corrida necessário para separar os quatro principais THM varia de apenas 15 à 35 minutos, o que reflete diretamente na redução de custos por amostra. Ao utilizar a GC deve-se tomar cuidado na composição da coluna cromatográfica escolhida, pois ela influencia diretamente na separação dos THM. Tais colunas são de sílica e revestidas com uma fase líquida, geralmente utiliza-se dimetilpolisiloxano como fase estacionária (fase não polar) que pode ser facilmente combinada com outros materiais, como por exemplo, fenil e grupos cianopropilfenil, a fim de obter a polaridade desejada.

Em relação aos detectores, como já dito anteriormente, os mais utilizados são os de espectrometria de massas (MS) e os de captura de elétrons (ECD), este último

apresenta a característica de ser altamente específico para compostos halogenados, o que o torna uma ferramenta valiosa na detecção dos THM.

2.5 OUTRAS FORMAS DE DESINFECÇÃO

A fim de contornar a geração de SPD clorados em águas, métodos alternativos de desinfecção têm sido propostos desde 1970. Dentre as principais alternativas propostas destaca-se o uso de ozônio (O_3), permanganato de potássio ($KMnO_4$), dióxido de cloro, peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e radiação Ultravioleta (UV) (MEYER, 1994; SANCHES *et al*, 2003).

Em geral, os processos alternativos citados acima não contribuem diretamente com a formação de THM. Entretanto, outros subprodutos são gerados, alguns dos quais apresentam a mesma dificuldade de remoção do que os THM. Adicionalmente, ainda não se tem total conhecimento dos seus efeitos na saúde humana, o que faz com que cada nova proposta deva ser analisada com cautela (MEYER, 1994; SANCHES *et al*, 2003).

2.5.1 Radiação Ultravioleta

Processos de desinfecção fundamentados no uso de radiação UV têm sido propostos com frequência nos últimos anos, principalmente com o objetivo de garantir a qualidade microbiológica da água potável com custos cada vez menores. Em geral, a radiação ultravioleta (200 a 400 nm) permite a inativação de microrganismos patogênicos, através da alteração do DNA ou de outras estruturas moleculares no interior das células, como proteínas e enzimas (LIU *et al*, 2012). Adicionalmente, o sistema permite minimizar a formação de THM, principalmente quando utilizada após cloração.

Malley *et al* (1995) relata que no ano de 1877 Downes e Blount foram os primeiros a identificar os efeitos da radiação UV, proveniente do sol, sobre as bactérias. Em 1910 foi desenvolvida uma lâmpada a vapor de mercúrio, recoberta com um bulbo

de quartzo, a fim de permitir a passagem da radiação UV pelo bulbo, e três décadas mais tarde observou-se que os comprimentos de onda ótimos para a desinfecção eram entre 250 e 266 nm.

A utilização da radiação UV como agente desinfetante se mostra promissora, uma vez que pode ser gerada naturalmente através da radiação solar, sendo dividida em três faixas espectrais, UVA (320 – 400 nm), UVB (280 – 320 nm) e UVC (100 – 280 nm). A primeira faixa, UVA, penetra em todas as camadas da atmosfera e é extremamente importante para a manutenção da vida, e em seres humanos especificamente, ela é responsável pela síntese da vitamina D. As outras duas faixas são frações que contêm maiores energias, sendo prejudiciais à saúde humana, principalmente a UVC, que é totalmente absorvida pela camada de ozônio presente na estratosfera. Apenas uma pequena parcela da radiação UVB é absorvida, e o restante chega à superfície terrestre. Desde 1920 há estudos que relacionam a exposição excessiva a essas radiações (UVB e UVC) com aparecimento e crescimento de tumores de pele (DIFFEY, 1991; GRUIJL, 1999; ARMSTRONG e KRICKER, 2001; ICHIHASHI *et al*, 2003; PORFIRIO *et al*, 2012).

Assim como em outros processos de desinfecção, a presença da matéria orgânica natural (MON) na água acarreta na formação de subprodutos até mesmo quando se utiliza a radiação ultravioleta. Esta pode interagir com a MON produzindo intermediários que, em algumas situações, podem ser mais tóxicos que os subprodutos clorados. Por esse motivo a degradação da MON através da oxidação fotoquímica com luz UV vem sendo estudada, utilizando-se longos tempos de exposição ou elevadas intensidades de radiação, objetivando-se a mineralização. A este respeito, Buchanan *et al* (2006) comentam a existência de poucos estudos que objetivam avaliar a mutagenicidade e citotoxicidade dos produtos formados a partir da incidência da radiação UV em águas contendo matéria orgânica natural (DAHLÉN *et al*, 1996; CORIN *et al*, 1996; VILHUNEN *et al*, 2010; LIU *et al*, 2012). Adicionalmente, estes autores mostram que a radiação UV altera as características das moléculas, transformando, por exemplo, moléculas hidrofóbicas em hidrofílicas.

As moléculas com grande massa molar da MON (ácidos húmicos e fúlvicos, por exemplo) podem ser fragmentadas pela radiação UV, com formação de inúmeros fragmentos de menor massa molar. Grandes moléculas alifáticas, por exemplo, tendem a formar moléculas menores contendo grupos carbonil e carboxil, as quais tendem a favorecer o crescimento microbiológico em meio aquático, em função da maior

facilidade para sua metabolização (CORIN *et al*, 1996; KULOVAARA *et al*, 1996; LIU *et al*, 2012).

Adicionalmente, Buchanan *et al* (2006) observaram que em águas ricas em nitrato e nitrito, a incidência de radiação UV tende a aumentar a concentração destes compostos e conseqüentemente, os riscos à saúde. Notaram também que no final deste tratamento as concentrações de peróxido de hidrogênio eram elevadas, o que implica na necessidade de processos auxiliares para a sua remoção.

A utilização da radiação UV pode ser associada a outros compostos, como por exemplo, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2). Neste caso o processo é considerado um processo de oxidação avançado, com a melhoria na propriedade oxidativa, uma vez que há a formação do radical hidroxila ($\bullet OH$) através da foto-dissociação do peróxido de hidrogênio. Contudo, Kleiser e Frimmel (2000) mostraram que inicialmente houve um aumento na concentração de THM nas desinfecções baseadas em UV/ H_2O_2 (seguidas de cloração) em períodos curtos de tempo, contudo em períodos mais longos verificaram-se concentrações menores de THM e a diminuição da concentração de carbono orgânico dissolvido. Ainda, pode ser observado aumento na biodegradabilidade da MON, conforme observado por Penru *et al* (2012) ao trabalhar com água salina, rica em ânions, como brometos e cloretos que são altamente reativos frente espécies oxidantes, neste caso a radiação UV associada com a presença de peróxido de hidrogênio. O aumento da biodegradabilidade da MON é um aspecto importante, pois influencia no reafloramento de microrganismos após a desinfecção.

Outra forma de tratamento baseado em radiação UV é a Ultravioleta à Vácuo (UVV), um processo que, segundo Buchanan *et al* (2006), gera maiores concentrações de peróxido devido à combinação de fotólise e foto-oxidação nas reações envolvendo MON. Contudo, o autor recomenda realizar outros tratamentos antes de ingerir a água, para a remoção de subprodutos, como o peróxido de hidrogênio, nitrito entre outros.

De maneira geral a utilização da radiação UV nos processos de desinfecção de água é eficiente. Schmid *et al* (2008) avaliaram a desinfecção de água, em garrafas de politereftalato de etileno (PET) transparentes, apenas com a incidência de radiação UV proveniente do sol, durante 6 horas. Os autores relatam que a desinfecção de água para consumo, através da radiação solar, é utilizada por mais de 2 milhões de pessoas em 31 países diferentes, e que esta prática tem diminuído significativamente a incidência de algumas doenças de veiculação hídrica, como a cólera e a diarreia em crianças de até 5 anos.

Apesar de a radiação UV poder ser utilizada isoladamente como técnica de desinfecção com resultados satisfatórios, no Brasil, em função da necessidade do residual de desinfetante na água para garantir sua assepsia durante toda a rota de distribuição, a Portaria nº 2914/2011 do Ministério da Saúde determina a necessidade da associação de cloro a qualquer técnica alternativa de desinfecção (BRASIL, 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho objetiva avaliar a formação de THM em processos de cloração, utilizando soluções aquosas de um composto modelo. Adicionalmente, objetiva-se verificar o efeito da radiação ultravioleta como agente alternativo de desinfecção associado à cloração, na geração de subprodutos com potencial tóxico relevante.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Realizar estudos preliminares, objetivando a seleção de um substrato padrão representativo da matéria orgânica natural encontrada em águas naturais destinadas a consumo.

Avaliar a formação de tri-halometanos em processo de cloração envolvendo soluções aquosas de um composto orgânico modelo (ácidos húmicos).

Utilizar a radiação ultravioleta como agente de desinfecção e estudo da fotodegradação do composto orgânico modelo escolhido.

Avaliar a formação de tri-halometanos em processo de cloração envolvendo soluções aquosas de um composto orgânico modelo pré-tratadas por radiação ultravioleta.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 MATERIAIS E REAGENTES

O padrão de ácido húmico (Sigma-Aldrich) foi gentilmente cedido pelo Prof. Dr. Marco Tadeu Grassi. As soluções estoque (100 e 1000 mg L^{-1}) foram preparadas em água ultra pura ($18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ a 25°C) e mantidas sob refrigeração (4°C).

Padrões em grau cromatográfico de pureza de tri-halometanos, contendo clorofórmio ($99,0 \%$), bromofórmio ($96,5 \%$), bromodiclorometano ($99,4 \%$) e dibromoclorometano ($99,9 \%$), foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

Nos estudos de cloração foi utilizada solução aquosa de hipoclorito de sódio, preparada a partir de padrão PA da Vetec, $4 - 6 \%$ de pureza. Esta solução padrão foi mantida sob refrigeração (4°C) e regularmente padronizada por titulação iodométrica.

Nos experimentos em que houve a necessidade de determinar cloro livre em solução foi utilizado um kit da Alfakit[®], para determinação de cloro livre em baixas e médias concentrações ($0,10 - 3,0 \text{ mg L}^{-1}$). Este teste baseia-se no método colorimétrico com o uso de N,N-dietil-p-fenilenediamina (DPD) – “Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater”, seção 4500-Cl G (APHA, 1999).

As demais soluções (ex. brometo de potássio, tiosulfato de sódio, etc.) foram preparadas no momento da utilização, utilizando-se padrões de grau analítico de pureza e água ultra-pura ($18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ a 25°C).

Todas as soluções foram preparadas utilizando-se vidraria analítica previamente calibrada e balança analítica digital Bioprecisa FA 2104N ($\pm 0,1 \text{ mg}$) e Sartorius, modelo CP225 D com precisão de $\pm 0,01 \text{ mg}$.

4.2 ESTUDOS PRELIMINARES – CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO MODELO

A caracterização do ácido húmico comercial foi realizada por análise elementar, espectroscopia UV-Vis, infravermelho e de fluorescência molecular.

A análise elementar (C, H, N) foi realizada na Central Analítica do Instituto de Química da USP, em um equipamento Elemental Analyser 2400 CHN Perkin-Elmer Series II – USA. Inicialmente o ácido húmico sólido foi seco a 105 °C por duas horas e enviado à Central Analítica. Segundo a metodologia já estabelecida, pesou-se aproximadamente 1,0 mg do sólido em uma balança analítica, com precisão de seis casas decimais (Perkin Elmer modelo AD6 USA), e procedeu-se a combustão a 925 °C em presença de oxigênio puro.

Os espectros de UV-Vis foram adquiridos em um espectrômetro de Shimadzu modelo UV-2401PC, utilizando-se cubetas de quartzo de 1 cm de caminho óptico e faixa de varredura de 200 a 800 nm. Soluções aquosas de ácido húmico foram caracterizadas na faixa de concentração compreendida entre 1,0 e 20 mg L⁻¹. Para calcular a relação E₄/E₆, foi utilizado o procedimento descrito por Chen *et al*⁶ (apud STEVENSON, 1982), diluindo-se 2,06 mg de ácido húmico em 10 mL de solução de bicarbonato de sódio 0,05 mol L⁻¹.

Os espectros de absorvância na região do infravermelho médio foram obtidos por espectrometria de infravermelho com transformada de Fourier, em um equipamento Vertex 70 (Bruker). O modo de aquisição de espectros foi reflectância difusa (FTIR-DRIFTS). Neste caso foi utilizado ácido húmico sólido, macerado e seco previamente.

Os espectros de fluorescência molecular foram obtidos em um espectrômetro de luminescência Hitachi F4500, utilizando uma cubeta de quartzo multifacetada com 10 mm de caminho óptico. As leituras no modo 3D foram realizadas com abertura de fenda de 5 nm para excitação e emissão, sendo empregada uma velocidade de varredura de 2400 nm min⁻¹, uma faixa de emissão de 100 a 600 nm e uma faixa de excitação 250 a 550 nm. As leituras no modo sincronizado foram registradas entre 250 e 600 nm, com intervalo entre os comprimentos de onda de excitação e emissão de 18 nm ($\lambda_{em} = \lambda_{exc} + 18$ nm), abertura de fenda de 5 nm, velocidade de varredura de 2400 nm min⁻¹ e resolução espectral de 0,2 nm, conforme utilizado por Sodré (2005). A solução de ácido húmico foi caracterizada no modo 3D na faixa de concentração compreendida entre 1,0 e 20,0 mg L⁻¹ e no modo sincronizado utilizou-se uma solução aquosa de ácido húmico 50 mg L⁻¹.

⁶ Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M.; **Information provided on humic substances by E4/E6 ratios.** Soil Science Society of America Journal, n°41, 1977, 352.

O processamento dos espectros 3D de fluorescência foi realizado no programa Matlab®, versão 7.0.1, enquanto que os demais espectros foram processados por meio do programa Origin®, versão 8.0724.

4.3 FORMAÇÃO DOS TRI-HALOMETANOS EM ENSAIOS DE CLORAÇÃO

A formação de THM a partir da molécula modelo (ácido húmico comercial) foi preliminarmente estudada por um sistema de planejamento fatorial fracionário 2^{5-1} , em que foi avaliado o efeito de cinco variáveis, sendo elas temperatura, pH e as concentrações de ácido húmico, hipoclorito de sódio e brometo de potássio, em níveis que foram selecionados de acordo com antecedentes da literatura. Na TABELA 05 são apresentadas as variáveis e os níveis correspondentes (ADIN *et al*, 1991; ICHIHASHI *et al*, 1999; RODRIGUES *et al*, 2007; UYAK *et al*, 2005).

TABELA 05 – FATORES E NÍVEIS DO PLANEJAMENTO 2^{5-1} TESTADOS PARA A ANÁLISE DA FORMAÇÃO DE THM

Variável	Nível		
	-	0	+
Concentração do Ácido Húmico (AH)	1,0 mg L ⁻¹	2,5 mg L ⁻¹	5,0 mg L ⁻¹
Concentração do Hipoclorito de Sódio (NaClO)	1,0 mg L ⁻¹	2,50 mg L ⁻¹	5,0 mg L ⁻¹
Concentração Brometo de Potássio (KBr)	0,0 mg L ⁻¹	0,5 mg L ⁻¹	1,0 mg L ⁻¹
Temperatura (T)	10 °C	20 °C	30 °C
pH	6,0	7,0	8,0

Tempo de reação = 120min.

As reações de cloração foram realizadas em balões volumétricos de 50 mL, controlando-se a temperatura em um banho termostatizado. Após 120 minutos do início da cloração, a reação foi interrompida pela adição de 30 µL de tiosulfato de sódio 2 mol L⁻¹. A degradação do ácido húmico foi avaliada por espectroscopia de fluorescência molecular (espectrômetro de luminescência Hitachi F4500), enquanto os THM formados foram determinados e quantificados por cromatografia em fase gasosa

com detector de captura de elétrons (cromatógrafo Agilent 6890), HS-GC-ECD, conforme descrito no item 4.5.2.

4.3.1 Estudo cinético da formação dos tri-halometanos

Após a realização do planejamento fatorial fracionário citado no item anterior, foi possível determinar a condição em que havia maior formação de THM, o que possibilitou melhor acompanhamento da formação destes compostos. Dessa forma, foram realizados dois experimentos para o acompanhamento da formação e THM em função do tempo, cujo diferencial era a presença ou não do íon brometo, conforme apresentado na TABELA 06. Os experimentos foram realizados em balões volumétricos de 500 mL, com temperatura controlada (através de um banho termostatzado), com duração de 120 minutos.

Durante a reação foram coletadas 14 alíquotas, a fim de monitorar o processo de formação dos THM (HS-GC-ECD), a degradação do ácido húmico (espectroscopia de fluorescência molecular) e o consumo do hipoclorito (medida de cloro livre residual). Foram coletadas alíquotas imediatamente antes da adição do hipoclorito de sódio, no primeiro minuto de reação, e aos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 minutos, totalizando 14 amostras.

TABELA 06 – CONDIÇÕES DE REAÇÃO PARA AVALIAÇÃO CINÉTICA DO PROCESSO DE FORMAÇÃO DE THM

	Condições de reação				
	Conc. de Ácido Húmico (mg L ⁻¹)	Conc. de Hipoclorito de Sódio (mg L ⁻¹)	Conc. de Brometo de Potássio (mg L ⁻¹)	Temperatura (°C)	pH
Cinética 1	5,0	5,0	0,0	30	8,0
Cinética 2	5,0	5,0	1,0	30	8,0

Concentrações maiores do que aquelas utilizadas nos ensaios anteriores foram utilizadas em dois outros ensaios, que permitiram melhor acompanhamento da degradação do ácido húmico e das mudanças estruturais promovidas pelo processo de

cloração. Utilizou-se 50 mg L^{-1} de ácido húmico, 50 mg L^{-1} de hipoclorito de sódio, o pH foi ajustado a 8 e a reação ocorreu em temperatura ambiente. Novamente a diferença entre os dois ensaios foi a presença ou a ausência do íon brometo, havendo 10 mg L^{-1} de brometo de potássio em um dos ensaios. As reações foram monitoradas através da espectroscopia UV-Vis e de fluorescência molecular no modo sincronizado.

4.4 PRÉ-TRATAMENTO COM RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA FORMAÇÃO DOS TRI-HALOMETANOS

A influência de pré-tratamentos fundamentados no uso de radiação UV na formação de THM foi avaliada por dois planejamentos fatoriais 2^2 , acrescidos de um ponto central ensaiado em triplicata, de acordo com as informações apresentadas na TABELA 07. Tal qual nas clorações não precedidas de pré-tratamento, um dos planejamentos foi realizado na presença de brometo de potássio. Como fontes de radiação foram utilizadas lâmpadas germicidas de 5, 7 e 9 W (Philips e Osram), que se caracterizam por forte emissão UVC, especificamente no comprimento de onda de 254 nm.

Inicialmente, para aquecimento, estabilização e eficiência luminosa máxima, a lâmpada foi mantida ligada durante dez minutos. Após esse tempo a lâmpada foi mergulhada na solução a ser irradiada, que foi mantida sob agitação durante a realização do pré-tratamento. A cloração subsequente foi realizada conforme descrito no item 4.3.1.

TABELA 07 – FATORES E NÍVEIS DO PLANEJAMENTO 2^2 TESTADOS PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO COM UVC NA FORMAÇÃO DE THM

Variáveis	Níveis		
	-	0	+
Potência da Lâmpada (W)	5	7	9
Tempo de exposição (min)	10	20	30

4.4.1 Influência da radiação Ultravioleta na estrutura do Ácido Húmico

Para avaliar a influência da radiação ultravioleta UVC na estrutura do ácido húmico foram realizados dois experimentos (presença e ausência de brometo). Com este objetivo, a solução de ácido húmico foi exposta durante 120 minutos a uma potência de 9 W, nas condições experimentais apresentadas TABELA 08.

Após estabilização, a lâmpada foi mergulhada na solução a ser irradiada, mantendo-se sob agitação durante todo o processo. Foram coletadas 14 aliquotas, a fim de acompanhar mudanças na estrutura do ácido húmico através de análises de espectroscopias UV-Vis e de fluorescência molecular no modo sincronizado (conforme descrito no item 4.2). Foram coletadas alíquotas antes do início da exposição, no primeiro minuto de exposição, e aos cinco, 10, 15, 20, 25, 30, 45, 60, 75, 90, 105 e 120 minutos, totalizando as 14 amostras.

TABELA 08 – CONDIÇÕES DE REAÇÃO PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA ESTRUTURA DO ÁCIDO HÚMICO

	Condições de Reação			
	Conc. de Ácido Húmico (mg L ⁻¹)	Conc. de Brometo de Potássio (mg L ⁻¹)	pH	Potência (W)
Cinética 1	50,0	0,0	8,0	9
Cinética 2	50,0	10,0	8,0	9

4.5 CONTROLE ANALÍTICO

4.5.1. Espectrometria

Os espectros eletrônicos foram adquiridos em espectrômetros Shimadzu (modelo UV-2401PC) e Varian (modelo Cary 50), utilizando-se cubetas de quartzo de 10 mm de caminho óptico.

Os espectros de fluorescência molecular foram obtidos em um espectrômetro de luminescência Hitachi F4500, utilizando cubeta de quartzo multifacetada com 10 mm de caminho óptico. As leituras foram realizadas em modo 3D e modo sincronizado, utilizando os parâmetros já descritos anteriormente no item 4.2.

O processamento dos espectros de fluorescência foi realizado no programa Matlab®, versão 7.0.1, enquanto que os demais espectros foram processados no programa Origin®, versão 8.0724.

4.5.2 Determinação cromatográfica de THM

A formação de tri-halometanos foi monitorada por cromatografia em fase gasosa, utilizando-se sistema cromatográfico Agilent 6890, equipado com uma coluna DB5 (30 m x 0,25 mm x 0,25 µm), detector de captura de elétrons e sistema de injeção do tipo *headspace* (HS-GC-ECD).

As condições de análise foram as otimizadas pelo Laboratório Ambiental do SESI/SENAI, sob a coordenação do M.Sc. Alexandre Emmel, utilizando-se os parâmetros apresentados na TABELA 09.

TABELA 09 – CONDIÇÕES CROMATOGRÁFICAS PARA A DETERMINAÇÃO DE THM

Parâmetros	Valor
Forno <i>headspace</i>	60 °C 5 min de agitação a 250 rpm (10s ON, 3s OFF)
Taxa de aquecimento do forno	Inicialmente 35 °C aquecimento até 150 °C em 2 min 20 °C/min durante 2 min Final:190 °C
Temperatura do injetor	250 °C
Temperatura do detector	300 °C
Temperatura da seringa	45 °C
Sistema de aquecimento da amostra	45 °C
Tempo de corrida	10 min
Coluna	5 % fenil, 95 % dimetilpolisiloxano

Para validação do método, foram construídas curvas analíticas para os quatro tri-halometanos, utilizando soluções com concentrações iguais a 1,0; 2,0; 5,0; 10,0; 25,0; 50,0; 60,0; 70,0; 80,0; 90,0; 100,0 $\mu\text{g L}^{-1}$ para cada THM.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO

5.1.1 Análise Elementar C, H, N

O ensaio de análise elementar foi realizado na Central Analítica do Instituto de Química da USP. A caracterização foi realizada a partir de ácido húmico sólido e previamente seco a 105 °C por duas horas. Após a combustão da amostra, todo o carbono presente na amostra passa para a forma de CO₂, o hidrogênio para a forma de H₂O e o nitrogênio forma diversos óxidos, N_xO_x, que passam por uma coluna de cobre metálico (640 °C) onde são reduzidos para N₂. Assim os gases resultantes (CO₂, H₂O e N₂) são arrastados por gás hélio puro (99,9999 % de pureza, Air Products), homogeneizados e separados por colunas específicas (empacotadas com sílica) e detectados por um detector de condutividade térmica (TCD).

Os resultados fornecidos pelo laboratório que prestou o serviço estão apresentados na TABELA 10.

TABELA 10 – ANÁLISE ELEMENTAR, EM DUPLICATA, DO ÁCIDO HÚMICO

	% Carbono	% Hidrogênio	% Nitrogênio
Análise 1	39,31	4,72	0,65
Análise 2	39,52	4,33	0,54
Média	39,41	4,52	0,60

Precisão do equipamento: ± 0,3% para C, H e N

Stumm (1992)⁷ (apud SODRÉ, 2005) relata que os constituintes mais importantes das substâncias húmicas são o carbono com porcentagem que varia de 40 à 60 %, oxigênio com 30-40 % e hidrogênio com variação de 4-6 %, contudo esse

⁷ STUMM, W.; **Chemistry of the solid water interface – process at the mineral-water and particle-water-interface in natural systems**. John Wiley & Sons, Nova Iorque, 1992.

valores são fortemente dependentes da natureza do solo e são afetados pela composição heterogênea da estrutura do ácido húmico. Assim, os valores obtidos são coerentes com a composição esperada para o ácido húmico.

5.1.2 Espectrometria Ultravioleta-Visível

O perfil do espectro do ácido húmico em solução aquosa foi obtido através da caracterização de oito soluções aquosas de ácido húmico, em concentrações entre 1,0 e 20 mg L⁻¹. Na sequência de espectros apresentados na FIGURA 12 é possível observar uma forte absorção do ácido húmico na região ultravioleta e um significativo decaimento do sinal com o aumento do comprimento de onda, fato também relatado por Chen *et al* (2002), Fontana (2006), Cunha *et al* (2007), Cunha *et al* (2009), Fasurová e Pospíšilová (2010), Matilanien *et al* (2011) e Primo *et al* (2011). Na região ultravioleta (240-325 nm) destaca-se um conjunto sobreposto de bandas, que também é característico desta classe de substâncias (MATILANIEN *et al*, 2011).

Sinais centrados entre 250 e 260 nm podem ser relacionados com a presença de grupos aromáticos, em função de transições $\pi-\pi^*$ características de benzenos substituídos e polifenóis (CHEN *et al*, 2002).

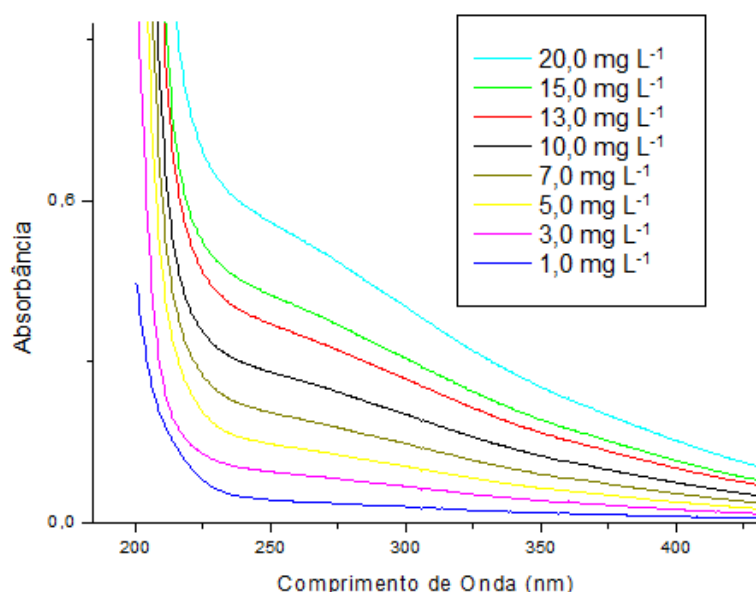


FIGURA 12 – ESPECTROS DE ABSORÇÃO UV-VIS DO ÁCIDO HÚMICO EM DIFERENTES CONCENTRAÇÕES

De maneira geral, a relação entre dois valores de absorbância registrados na região do visível tem sido utilizada para avaliar o tamanho e a massa molar dos materiais húmicos, o que, por sua vez, permite estimar o grau de humificação da cadeia carbônica. Assim, é comum o cálculo da razão E_4/E_6 (465 nm/ 665 nm), que se relaciona inversamente com a massa molar da molécula e com o grau de aromaticidade.

Neste trabalho foi utilizada a proposta de Chen *et al* (1977)⁸ (apud STEVENSON, 1982), que estabelece a relação entre a absorbância registrada nos comprimentos de onda de 465 e 665 nm, utilizando a solução de ácido húmico em bicarbonato de sódio, o autor ainda enfatiza que o melhor valor de pH, para caracterização de substâncias húmicas por espectroscopia UV-Vis, está na faixa 7-8, valores estes obtidos através da solução de NaHCO_3 .

Nestas condições (FIGURA 13), a razão E_4/E_6 foi de aproximadamente 4,75, valor que está em concordância com as observações de Chen *et al* (1977), que admite valores inferiores a 5 para ácidos húmicos e entre 6,0 e 8,5 para ácidos fúlvicos. Em geral, admite-se que elevados valores de E_4/E_6 correspondem a moléculas com predominância de estruturas alifáticas e, conseqüentemente, com menor grau de condensação aromática, o que está diretamente ligado com o tempo de humificação. Neste caso, a predominância de estruturas alifáticas, corresponde a um tempo curto de humificação e um elevado grau de humificação (STEVENSON, 1982).

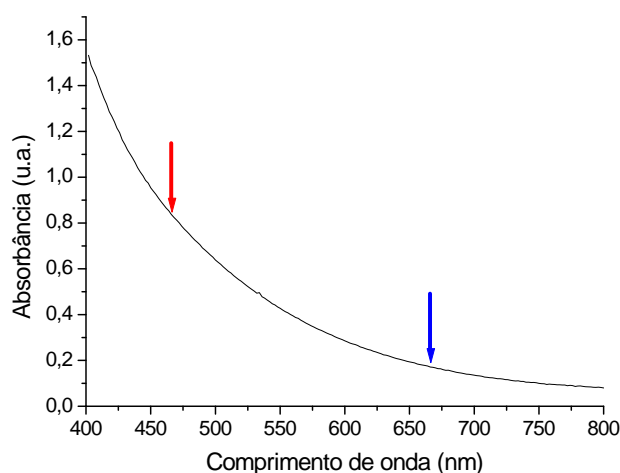


FIGURA 13 – ESPECTRO UV-VIS DO ÁCIDO HÚMICO, SEGUNDO METODOLOGIA DE CHEN *et al* (1977)

⁸ Chen, Y., Senesi, N., Schnitzer, M.; **Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios.** Soil Science Society of America Journal, n°41, 1977, 352

Segundo relatos da literatura essa razão não está relacionada com a concentração do material húmico, sendo mais bem relacionadas com as cadeias carbônicas presentes. O tipo de estrutura encontrada é fortemente influenciado pela vegetação, clima, composição da matéria orgânica e, como Fontana (2009) ressalta, por características como hidromorfismo e oligotrofismo do solo (drenagem interna e externa limitada e escassez de nutrientes, respectivamente), que influenciam no processo de humificação e acabam por preservar o material vegetal com maior quantidade de grupos alifáticos.

5.1.3 Espectroscopia de Fluorescência Molecular

A Espectroscopia de Fluorescência Molecular é outra ferramenta que permite a caracterização de materiais húmicos. Velasco *et al* (2004) descreve que os espectros 3D de ácido húmico têm como característica dois ombros: o primeiro, localizado em comprimentos de ondas menores, apresenta maior intensidade de fluorescência e é mais definido do que o segundo ombro. Nos ensaios realizados observou-se claramente esta característica (FIGURA 14), sem grandes modificações na faixa de concentração estudada.

Geralmente, o sinal de fluorescência registrado em regiões de maior comprimento de onda ($Ex = 420\text{--}470\text{ nm}/Em = 490\text{--}530\text{ nm}$) é associado à presença de anéis aromáticos condensados e de espécies insaturadas com elevado grau de conjugação e massa molar. Por outro lado, sinais de fluorescência registrados em regiões de menor comprimento de onda ($Ex = 345\text{--}375\text{ nm}/Em = 450\text{--}465\text{ nm}$) são comumente atribuídos a estruturas mais simples, de baixa massa molar, baixo grau de policondensação aromática e, conseqüentemente, maior alifaticidade (XIAOLI *et al*, 2012).

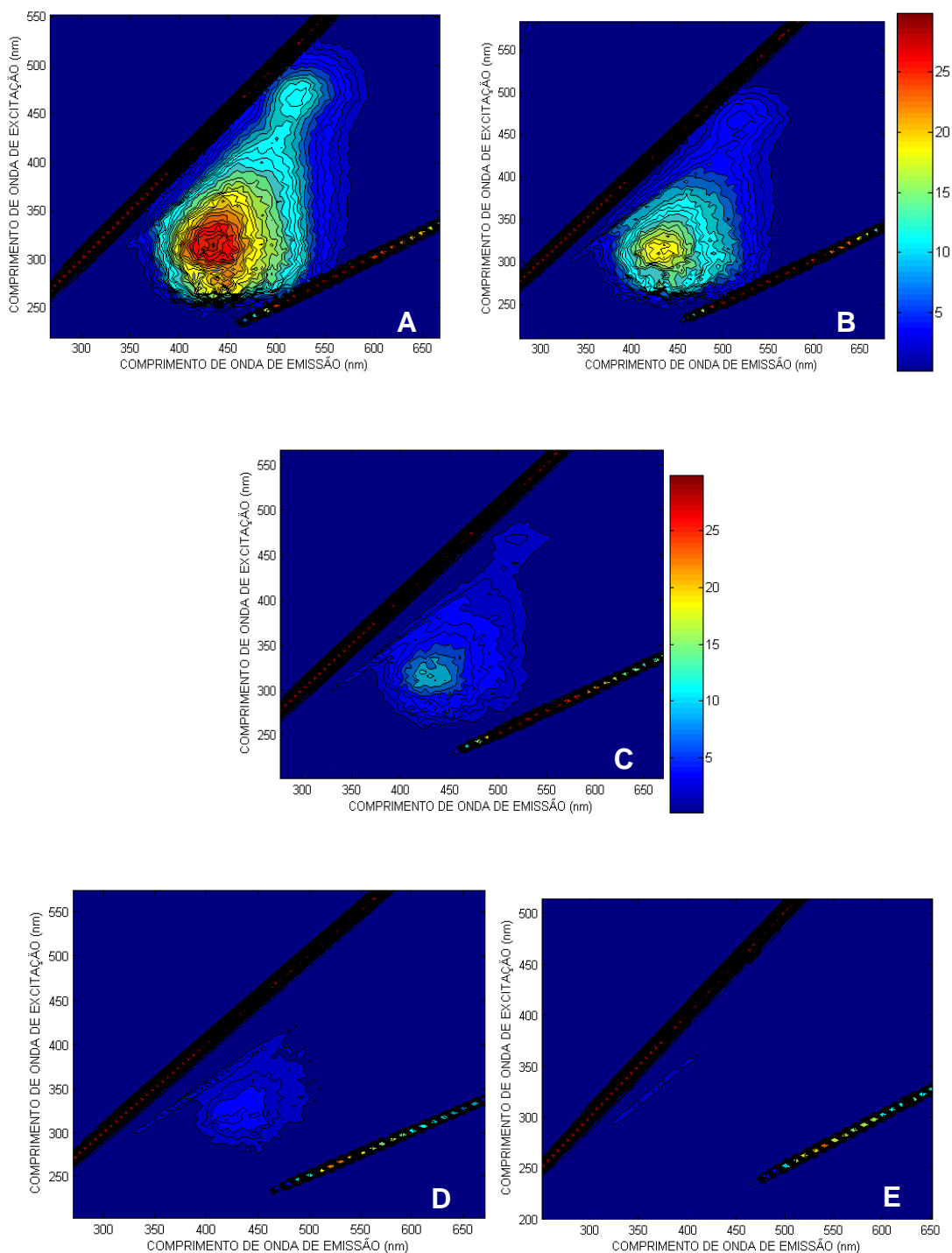


FIGURA 14 – SEQUÊNCIA DE ESPECTROS DE EXCITAÇÃO-EMIÇÃO PARA SOLUÇÕES DE ÁCIDO HÚMICO DE DIFERENTES CONCENTRAÇÕES A) 20,0 mg L⁻¹; B) 10,0 mg L⁻¹; C) 5,0 mg L⁻¹; D) 3,0 mg L⁻¹; E) 1,0 mg L⁻¹

Na sequência de espectros apresentada na FIGURA 14 é possível observar uma boa correlação entre a intensidade de fluorescência e a concentração do ácido húmico, o que, em princípio, sugere a possibilidade de análises quantitativas. Entretanto, de acordo com Skoog *et al* (2002) e Hudson *et al* (2007), vários fatores podem interferir na

intensidade da fluorescência, particularmente o pH. Como exemplo, apresenta-se na FIGURA 15 um gráfico que correlaciona a intensidade de fluorescência com o valor de pH, registrados para uma amostra contendo $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ de ácido húmico. A partir destes resultados confirma-se a influência do pH, o que implica na necessidade do seu rigoroso controle nas medidas que objetivam avaliar a concentração de ácido húmico por fluorescência molecular.

O acréscimo na intensidade de fluorescência conforme o pH aumenta pode ser explicado pela desprotonação de grupamentos carboxílicos e carbonílicos, os quais apresentam um comportamento que diminui a fluorescência quando protonados. Além disso, a presença de cargas negativas em estruturas aromáticas aumenta a conjugação eletrônica, favorecendo o fenômeno de fluorescência molecular (COELHO, 2004).

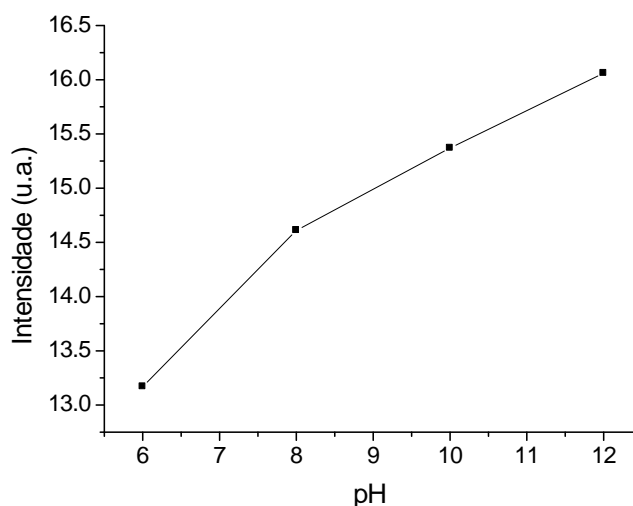


FIGURA 15 – RELAÇÃO ENTRE INTENSIDADE DE FLUORESCÊNCIA E pH PARA UMA SOLUÇÃO AQUOSA DE $5,0 \text{ mg L}^{-1}$ DE ÁCIDO HÚMICO

Os espectros de fluorescência obtidos no modo sincronizado permitem maior detalhamento a respeito da estrutura do substrato modelo de MON, ácido húmico comercial, uma vez que é obtida a intensidade da fluorescência durante a digitalização simultânea dos comprimentos de onda de emissão e excitação com um valor constante dado por $\Delta\lambda = \lambda_{\text{emissão}} - \lambda_{\text{excitação}}$. A fluorescência sincronizada promove uma melhor resolução nos picos, melhor sensibilidade e permite a diferenciação de espectros de

fluorescência de ácidos húmicos de diferentes origens (MIANO e SENESI, 1992; GALAPATE *et al*, 1998; AHMAD *et al*, 2002; CHEN *et al*, 2002).

Nos últimos anos tem-se estudado diversas maneiras de caracterizar a matéria orgânica através da fluorescência no modo sincronizado. Peuravuori e colaboradores (2002) avaliaram o comportamento de sete diferentes frações de matéria orgânica de diferentes origens, e puderam identificar a presença de estruturas orgânicas em várias regiões do espectro, conforme mostrado na FIGURA 16.

De acordo com os autores, sinais de fluorescência em comprimentos de onda menores, em torno de 298 nm (região A), podem ser atribuídos à presença de aminoácidos aromáticos e outros ácidos voláteis que apresentam estrutura alifática e altamente conjugada. Em 330 nm, região B, as bandas podem ser atribuídas à presença de naftaleno e seus derivados. Sinais na região C, em torno de 355 nm, caracterizam-se pela presença de policíclicos aromáticos com três ou quatro anéis condensados, enquanto que em 400 nm o sinal corresponde à presença de compostos policíclicos contendo cinco anéis benzênicos condensados. Em 460 nm estima-se que haja a presença de compostos contendo sete anéis aromáticos, o que é característico de estruturas do tipo lignina.

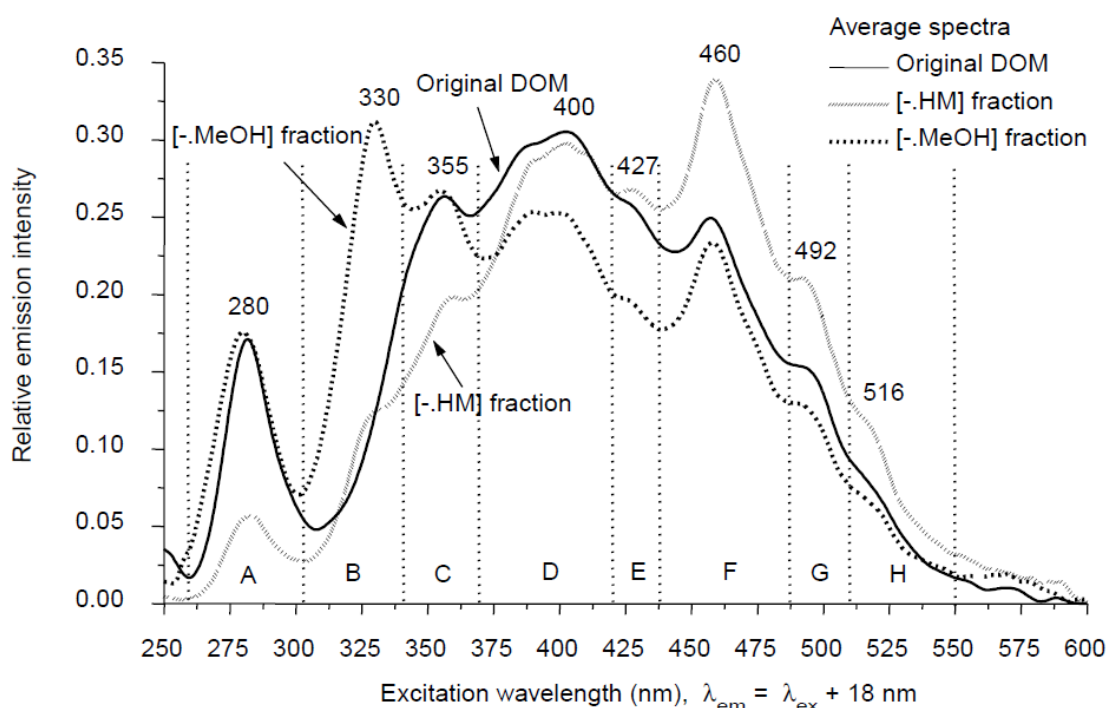


FIGURA 16 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA REALIZADOS NO MODO SINCRONIZADOS ($\Delta\lambda = 18$ nm) PARA DIFERENTES FRAÇÕES DAS SUBSTÂNCIAS HÚMICAS E MATÉRIA ORGÂNICA NATURAL

FONTE: PEURAVUORI *et al*, 2002

Assim, a interpretação do espectro de fluorescência molecular obtido no modo sincronizado do composto modelo utilizado neste trabalho foi baseada nas observações de Peuravuori *et al* (2002). Na FIGURA 17 está representado o espectro obtido com uma solução aquosa de ácido húmico de 50,0 mg L⁻¹. Nota-se a clara presença de dois ombros. O primeiro, mais intenso e localizado em comprimentos de onda menores, localizados na região A e B, sendo atribuídos à presença de estruturas mais alifáticas e que apresentam conjugação, enquanto que a presença de fluorescência nas regiões com comprimentos de onda maiores, regiões C e D, menos intensa, é caracterizada por compostos com que apresentam condensação aromática que varia de quatro até sete anéis.

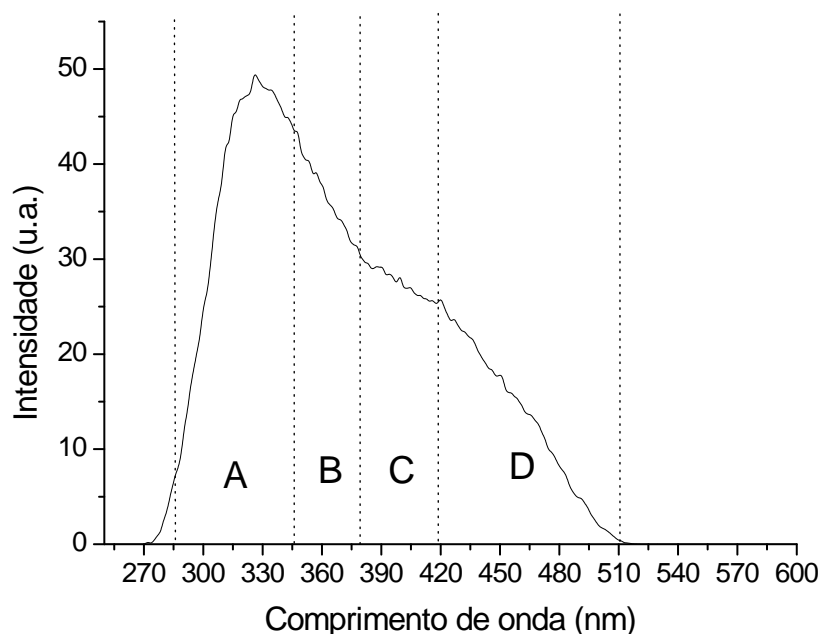


FIGURA 17 – ESPECTRO DE FLUORESCÊNCIA NO MODO SINCRONIZADO ($\Delta\lambda = 18$ nm) DO ÁCIDO HÚMICO COMERCIAL

Sendo assim, observa-se que o ácido húmico comercial utilizado apresenta maior concentração de estruturas alifáticas que estruturas aromáticas, resultado que está em concordância com o observado no modo 3D e é coerente com um alto grau de humificação anteriormente observado nos espectros eletrônicos.

5.1.4 Espectroscopia vibracional

O espectro infravermelho possibilitou identificar os principais grupos funcionais presentes na estrutura do ácido húmico. Cabe ressaltar, porém, que tal identificação não pode ser considerada definitiva, em função da sobreposição de bandas que é usual na caracterização por infravermelho de compostos que possuem grande variedade de grupos funcionais.

A partir dos sinais espectrais apresentados na FIGURA 18, e tendo como base os trabalhos de Stevenson e Goh (1971), Paim *et al* (1990), Shin *et al* (1999), Francioso *et al* (2001), Chen *et al* (2002), Senesi *et al* (2003), Fontana (2006), Kim *et al* (2006), Samios *et al* (2007), Sanches *et al* (2007), Silverstein *et al* (2007), Siéliéchi *et al* (2008), Fontana (2009) e Dobbs *et al* (2009) e foi possível identificar bandas associadas aos principais grupos funcionais, destacando as discutidas a seguir.

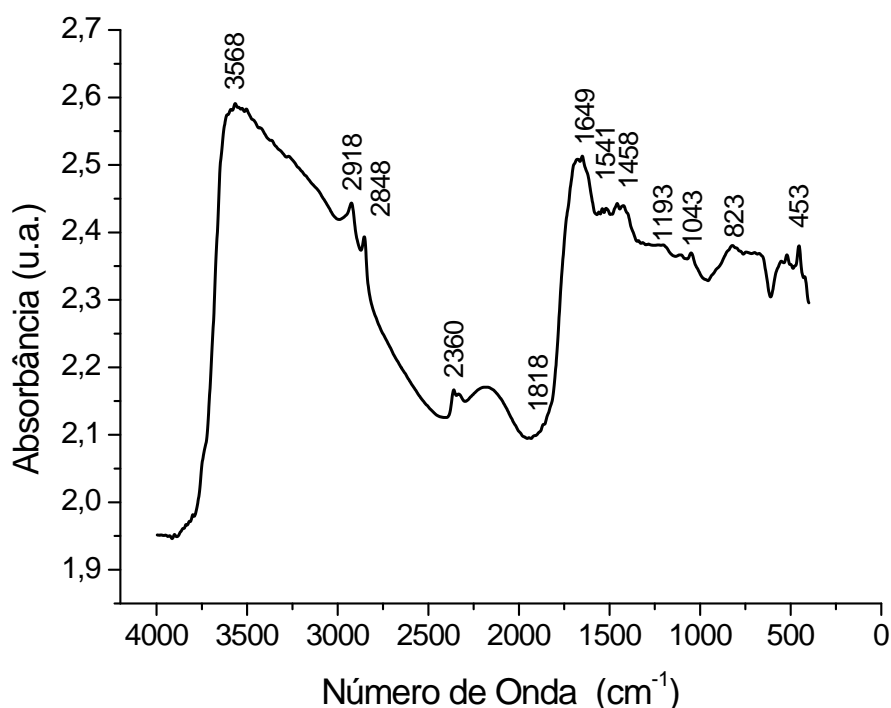


FIGURA 18 – ESPECTRO DE INFRAVERMELHO DO ÁCIDO HÚMICO, OBTIDO NO ESTADO SÓLIDO

A banda intensa centrada em 3568 cm^{-1} foi atribuída aos estiramentos das ligações de hidrogênio dos grupos OH e NH, e as bandas de menor intensidade, centradas em 2918 e 2848 cm^{-1} foram atribuídas às deformações axiais assimétricas e

simétricas, respectivamente, dos CH alifáticos (CH_2 e CH_3). Em 2360 cm^{-1} observa-se um sinal característico da deformação da ligação O-H de carboxilas, enquanto o ombro observado em 1818 cm^{-1} pode ser atribuído à deformação axial de grupos carbonílicos presentes em cetonas, aldeídos e ésteres.

O ombro em 1649 cm^{-1} pode ser atribuído a carbonilas ligadas a aminas primárias e quinonas. Contudo, nesta mesma região podem-se encontrar bandas referentes a estiramentos C=C alifáticos. Em 1541 cm^{-1} se observa um discreto ombro que pode ter três diferentes origens: estiramento C=C de aromáticos, deformação N-H e estiramento C=N em amidas conjugadas. Em 1458 cm^{-1} tem-se novamente a deformação assimétrica de C-H alifáticos, contudo neste caso a deformação é angular.

Os ombros localizados em 1193 e 1043 cm^{-1} são atribuídos às deformações angular e axial, respectivamente, do grupo carboxílico (C-O) em fenóis e alcoóis alifáticos. Em 823 cm^{-1} confirma-se a presença de anéis aromáticos, por ser uma região em que ocorre a deformação angular para fora do plano das ligações C-H. Finalmente, o ombro em 453 cm^{-1} pode ser atribuído à presença de estruturas organometálicas.

Assim, considerando tanto a espectroscopia UV-Vis, como a fluorescência molecular, é coerente afirmar que o ácido húmico utilizado neste trabalho apresenta um elevado grau de humificação, o que implica na predominância de estruturas alifáticas e, por sua vez, baixo grau de policondensação aromática. A espectroscopia na região do infravermelho demonstra a presença de uma grande variedade de grupos funcionais, o que é comum em estruturas complexas como a do ácido húmico.

5.2 DETERMINAÇÃO DE TRI-HALOMETANOS POR CG-DCE

A Determinação de THM foi realizada por cromatografia em fase gasosa, utilizando detector de captura de elétrons e sistema de injeção do tipo *headspace* (HS-GC-ECD). Trata-se de um sistema de detecção que apresenta elevada sensibilidade, principalmente em relação à determinação de espécies halogenadas.

Trabalhando-se nas condições desenvolvidas e adotadas pelo Laboratório Ambiental do SESI/SENAI (ver item 4.5.2) foi possível observar uma boa resolução dos picos cromatográficos (FIGURA 19), em um tempo de corrida inferior a 10 min.

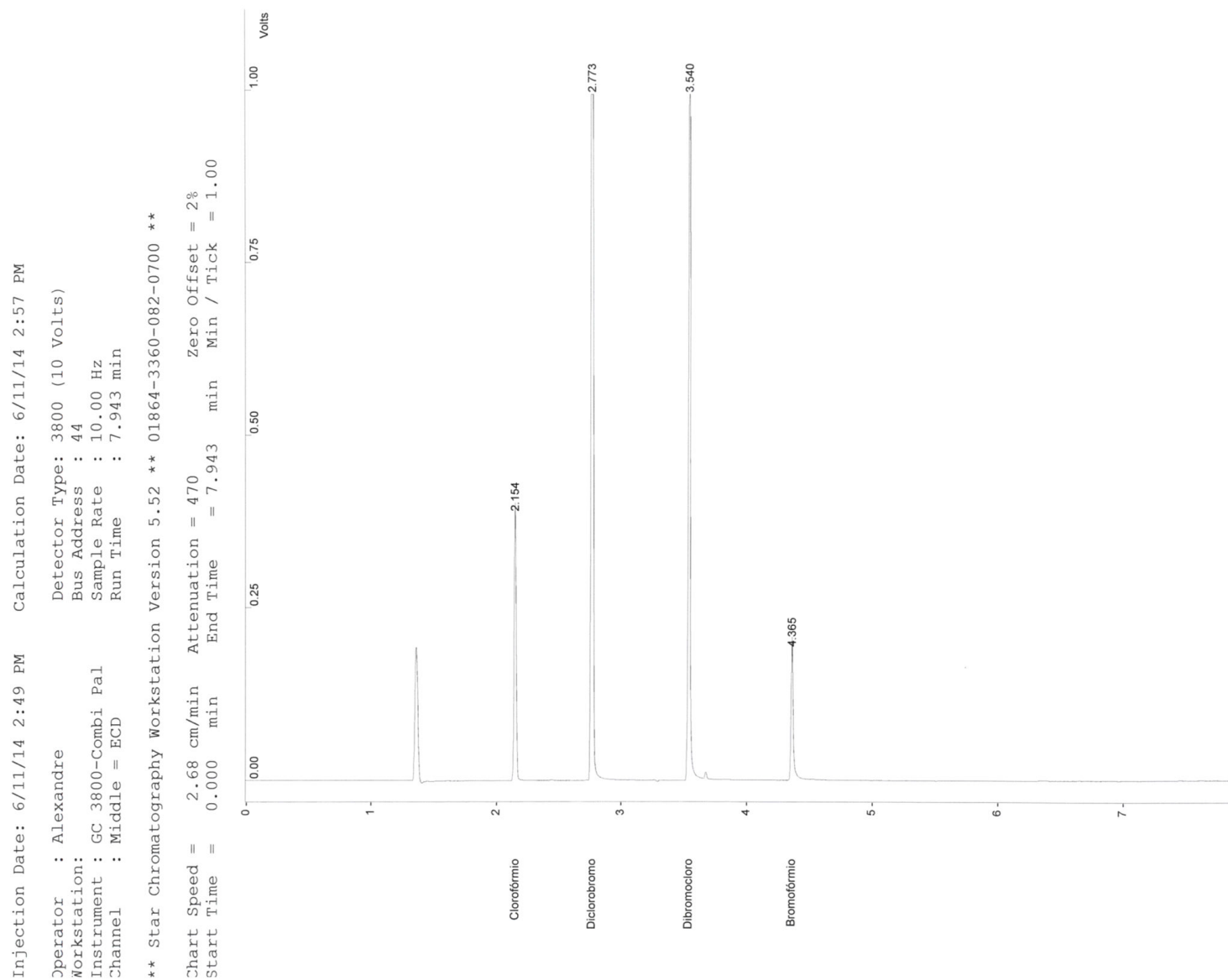


FIGURA 19 – SEPARAÇÃO CROMATOGRÁFICA DOS QUATRO THM: CLOROFÓRMIO, BROMODICLOROMETANO, DIBROMOCLOROMETANO E BROMOFÓRMIO POR HS-CG-DCE, DE UMA SOLUÇÃO PADRÃO DE $50 \mu\text{g L}^{-1}$

As curvas analíticas se mostraram adequadamente lineares na faixa de concentração entre 1,0 e 50,0 $\mu\text{g L}^{-1}$, apresentando coeficientes de determinação superiores a 0,993 conforme mostrado na FIGURA 20.

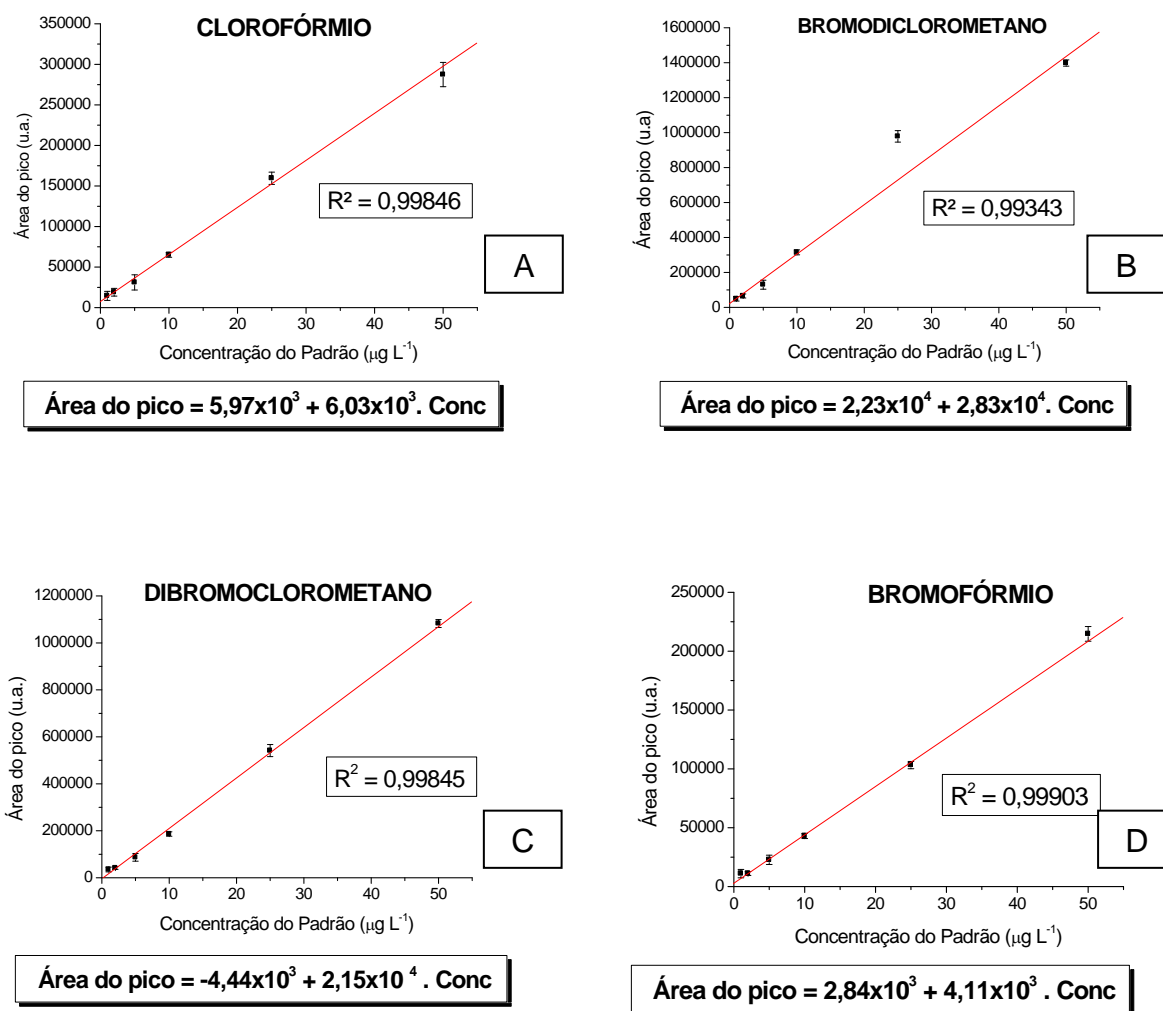


FIGURA 20 – CURVAS ANALÍTICAS DA METODOLOGIA DESENVOLVIDA NO HS-CG-DCE PARA A DETERMINAÇÃO DE CLOROFÓRMIO (A), BROMODICLOROMETANO (B), DIBROMOCLOROMETANO (C) E BROMOFÓRMIO (D)

A partir das curvas analíticas foram calculados os Limites de Detecção (LD) e de Quantificação (LQ), de acordo com recomendações da Resolução nº 899, de maio de 2003 da Agência Nacional de Vigilância Sanitária – ANVISA e com base no trabalho de Ribani *et al* (2004). Assim, o LD, que representa a menor concentração da substância em exame que pode ser detectada, mas não necessariamente quantificada,

foi calculado a partir da expressão apresentada a seguir, na qual “s” representa a estimativa do desvio padrão do branco e “b” o coeficiente angular da curva.

$$LD = 3,3 \times \frac{s}{b}$$

O valor de LQ, que representa a menor concentração da substância em exame que pode ser medida e foi determinado de maneira análoga, utilizando a expressão abaixo:

$$LQ = 10 \times \frac{s}{b}$$

Os resultados desta avaliação (TABELA 11) sugerem boa capacidade do método para determinação dos THM em concentração entre 1,6 (Bromodiclorometano) e 5,9 $\mu\text{g L}^{-1}$ (Clorofórmio), o que, em princípio, parece adequado para os objetivos do trabalho. Entretanto, é importante destacar que a determinação do LQ representa um compromisso entre a concentração, a precisão e a exatidão exigidas (ANVISA, 2003; RIBANI *et al* 2004). Desta forma, os resultados apresentados na FIGURA 21 sugerem que o limite de quantificação deva ser superior a 5 $\mu\text{g L}^{-1}$ para todas as espécies em estudo, concentração a partir da qual se observam estimativas de desvio padrão inferiores a 10 %.

TABELA 11 – LIMITES DE DETECÇÃO (LD) E DE QUANTIFICAÇÃO (LQ) PARA OS QUATRO THM ESTUDADOS

	LD	LQ
Clorofórmio	1,96 $\mu\text{g L}^{-1}$	5,94 $\mu\text{g L}^{-1}$
Bromodiclorometano	0,54 $\mu\text{g L}^{-1}$	1,64 $\mu\text{g L}^{-1}$
Dibromoclorometano	0,72 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,18 $\mu\text{g L}^{-1}$
Bromofórmio	0,98 $\mu\text{g L}^{-1}$	2,97 $\mu\text{g L}^{-1}$

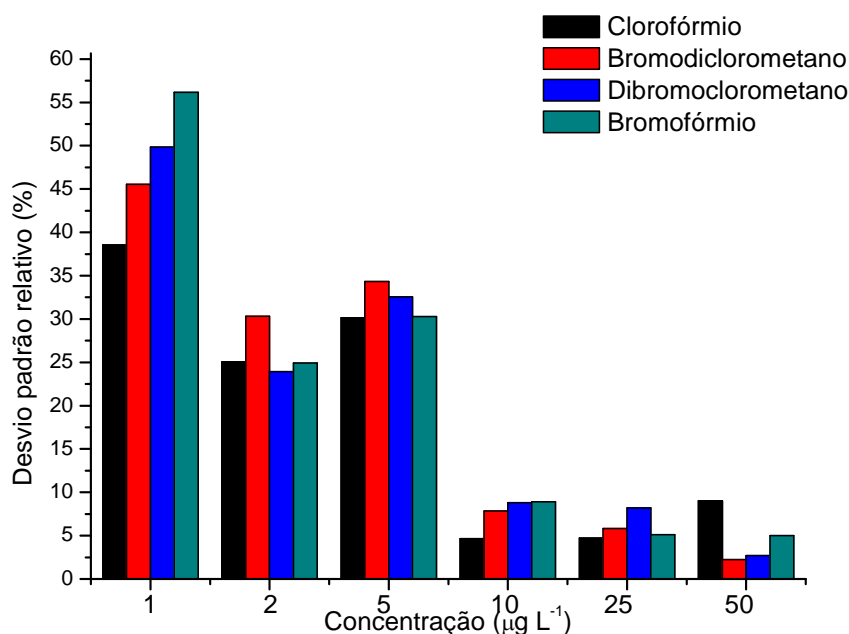


FIGURA 21 – GRÁFICO DA ESTIMATIVA DO DESVIO PADRÃO RELATIVO (%) VERSUS CONCENTRAÇÃO DO PADRÃO (µg L⁻¹)

5.3 FORMAÇÃO DE TRI-HALOMETANOS

Inicialmente, a formação de THM foi avaliada por um planejamento fatorial fracionário, levando-se em consideração as variáveis: concentração de ácido húmico (AH), de hipoclorito de sódio (NaClO), de brometo de potássio (KBr), temperatura (T) e pH. A utilização do planejamento fatorial para avaliar os efeitos dessas variáveis se justifica pelo fato de permitir extrair o máximo de informações úteis do sistema em questão, com um número mínimo de experimentos. Dentre os planejamentos fatoriais mais utilizados destacam-se os planejamentos fatoriais fracionários, que são extremamente econômicos e podem ser utilizados para estudar dezenas de fatores de uma só vez, tendo como maior vantagem o número reduzido de experimentos sem interferência significativa na resposta e na interpretação dos resultados (NETO *et al*, 2010).

Por se tratar de um planejamento fracionário 2^{5-1} , os 16 experimentos correspondem aos mesmos de um planejamento 2^4 completo, os quais foram realizados de maneira aleatória, de acordo com os contrastes apresentados na TABELA 12. Os contrastes da quinta variável (pH) foram obtidos por meio de uma

função geradora 5=1234, o que significa que os sinais obtidos na quinta coluna (pH), são na verdade produtos da multiplicação das colunas anteriores 1 (AH), 2 (NaClO), 3 (KBr) e 4 (T).

Este planejamento foi acrescido de um ponto central ensaiado em quintuplicata, experimentos 17 ao 21, o que permitiu a determinação da estimativa do desvio padrão característico da determinação de cada THM formado, por HS-CG-DCE. Além da concentração de THM foi processada a intensidade de fluorescência, registrada na região de maior intensidade.

TABELA 12 – PLANEJAMENTO FRACIONÁRIO 2^{5-1} PARA A ANÁLISE DA FORMAÇÃO DE THM

	Variáveis				
	AH	NaClO	KBr	T	pH
1	-	-	-	-	+
2	+	-	-	-	-
3	-	+	-	-	-
4	+	+	-	-	+
5	-	-	+	-	-
6	+	-	+	-	+
7	-	+	+	-	+
8	+	+	+	-	-
9	-	-	-	+	-
10	+	-	-	+	+
11	-	+	-	+	+
12	+	+	-	+	-
13	-	-	+	+	+
14	+	-	+	+	-
15	-	+	+	+	-
16	+	+	+	+	+
17	0	0	0	0	0
18	0	0	0	0	0
19	0	0	0	0	0
20	0	0	0	0	0
21	0	0	0	0	0
Função geradora: 5=1234					

Em primeiro lugar foram analisados os resultados referentes à degradação do ácido húmico, considerando como resposta o sinal de fluorescência apresentado na TABELA 13.

TABELA 13 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^{5-1} UTILIZADO PARA AVALIAR A DEGRADAÇÃO DO ÁCIDO HÚMICO DURANTE O PROCESSO DE CLORAÇÃO E FORMAÇÃO DE THM A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO

Ensaio	Intensidade de Fluorescência (u.a.)
1	0,0
2	14,5
3	0,0
4	18,7
5	0,0
6	12,9
7	1,5
8	7,2
9	0,0
10	19,2
11	1,7
12	19,6
13	0,0
14	12,6
15	0,0
16	9,1
17	6,1
18	6,7
19	6,2
20	5,9
21	5,7

A partir dos resultados mostrados na tabela acima foram calculados os efeitos de primeira, segunda e terceira ordem (TABELA 14) que serviram de base para a discussão apresentada à continuação.

É importante destacar que em planejamentos fracionários de resolução 5, efeitos de segunda ordem sofrem *confundimento* com efeitos de terceira ordem. Estes *confundimentos* existem devido à redução do número de experimento e não comprometem a análise dos efeitos, desde que a interpretação considere esta possibilidade. Por outro lado, Neto *et al* (2010) ressalta que em planejamentos fracionários que envolvem muitas variáveis, os efeitos de ordem superiores raramente são significativos, o que faz com que, neste caso, os *confundimentos* sejam de menor importância.

TABELA 14 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA O SINAL DE FLUORESCÊNCIA. OS EFEITOS SIGNIFICATIVOS ENCONTRAM-SE DESTACADOS EM NEGRITO

EFEITOS DE PRIMEIRA ORDEM		EFEITOS DE SEGUNDA ORDEM		EFEITOS DE TERCEIRA ORDEM	
AH	13,8	AH x NaClO	1,0	AH x NaClO x KBr	1,7
NaClO	-0,2	AH x KBr	3,7	AH x NaClO x T	0,2
KBr	-3,8	AH x T	0,9	AH x NaClO x pH	0,9
T	0,9	AH x pH	0,3	AH x KBr x T	0,1
pH	1,1	NaClO x KBr	1,7	AH x KBr x pH	0,2
t₉₅ % x S	1,0	NaClO x T	0,2	AH x T x pH	1,7
		NaClO x pH	0,1	NaClO x Br x T	0,3
		KBr x T	0,9	NaClO x KBr x pH	0,9
		KBr x pH	0,2	NaClO x T x pH	3,7
		T X pH	1,7	KBr x T x pH	1,0
		t₉₅ % x S	1,0	t₉₅ % x S	1,0

Levando-se em consideração a estimativa do desvio padrão e o coeficiente de Student (células destacadas em azul na tabela a cima) é possível admitir, com 95 % de confiança, que apenas a concentração de ácido húmico e de brometo apresentam um efeito significativo na magnitude do sinal de fluorescência (TABELA 14).

O efeito positivo da concentração de ácido húmico (13,8) não representa informação relevante, uma vez que maiores concentrações necessariamente devem produzir um sinal de maior intensidade, mesmo em condições de cloração, tendo em vista que este é o único composto no sistema que apresenta fluorescência. Por sua vez, o efeito negativo da concentração de brometo sugere que a presença de brometo sacrifica de forma mais expressiva grupos fluorescentes, do ácido húmico, na produção de THM bromados – em comparação à produção exclusiva de clorofórmio - podendo gerar ainda formas parcialmente bromadas do substrato que são menos fluorescentes. Em geral, a substituição por halogênios tende a diminuir a intensidade de fluorescência, efeito observado principalmente quando há o aumento do número atômico do halogênio (SKOOG *et al* 2002). Isto é atribuído em partes ao efeito de átomo pesado,

que aumenta a probabilidade de cruzamento intersistema para o estado triplete, que é supressor de fluorescência.

As principais observações, contudo, dizem respeito aos efeitos de segunda e terceira ordem, os quais também são apresentados na TABELA 14. Em função dos *confundimentos* já salientados, o efeito positivo de 3,7 pode ser atribuído ao efeito de segunda ordem entre a concentração de ácido húmico e de brometo ou ao efeito de terceira ordem das variáveis complementares (concentração de hipoclorito, temperatura e pH). Em função de nenhuma destas últimas 3 variáveis terem apresentado um efeito significativo de primeira ordem, é possível admitir que o efeito mais significativo seja aquele de segunda ordem, o qual é ilustrado na representação geométrica apresentada na FIGURA 22. Nesta representação fica evidenciado o efeito não equivalente do aumento da concentração de brometo para ambas as concentrações de ácido húmico, o que implica que praticamente todos os grupos fluoróforos podem ser clorados/bromados quando a concentração de ácido húmico é pequena.

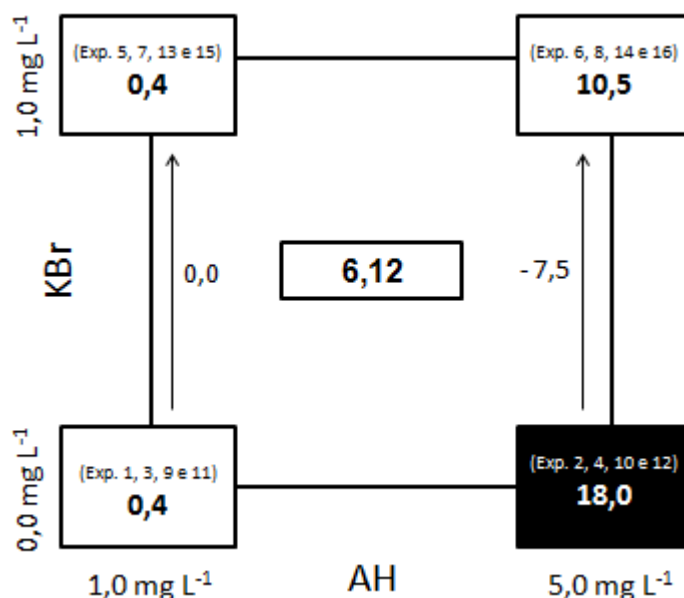


FIGURA 22 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM NA MODIFICAÇÃO DO SINAL DE FLUORESCÊNCIA ASSOCIADO À CLORAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO

Em cada um dos ensaios do planejamento foi determinada a concentração dos THM em estudo, obtendo-se os resultados apresentados na TABELA 15. Embora

muitas concentrações sejam menores que o LQ estabelecido, todos os valores foram utilizados para o cálculo dos efeitos analisados na sequência.

TABELA 15 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^{5-1} DURANTE O PROCESSO DE CLORAÇÃO E FORMAÇÃO DE THM ($\mu\text{g L}^{-1}$) A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO

Ensaio	Clorofórmio	Bromodiclorometano	Dibromoclorometano	Bromofórmio
1	2,5	*nd	*nd	*nd
2	1,6	*nd	*nd	*nd
3	1,8	*nd	*nd	*nd
4	35,9	*nd	*nd	*nd
5	*nd	*nd	1,0	1,8
6	*nd	*nd	*nd	*nd
7	1,0	2,1	4,4	4,8
8	*nd	1,0	5,3	10,4
9	2,6	*nd	*nd	*nd
10	9,8	*nd	*nd	*nd
11	11,6	*nd	*nd	*nd
12	18,5	*nd	*nd	*nd
13	*nd	*nd	2,0	14,0
14	*nd	*nd	2,0	4,5
15	*nd	*nd	6,9	13,4
16	1,9	8,7	32,0	54,6
17	1,7	4,5	13,7	14,5
18	1,0	2,7	10,3	12,6
19	1,0	3,0	10,9	11,2
20	1,2	3,3	11,6	12,3
21	1,0	3,0	11,2	12,1

*nd = não determinado (valor abaixo de $1,0 \mu\text{g L}^{-1}$).

Para facilitar a interpretação dos resultados, os efeitos de primeira, segunda e terceira ordem de cada um dos quatro THM serão avaliados individualmente. Sendo assim, a primeira análise será em relação ao clorofórmio, cujos resultados são apresentados na TABELA 16.

Analisando inicialmente os efeitos principais, e levando em consideração o intervalo de confiança de 95 %, observa-se um expressivo efeito negativo da concentração de brometos (-9,94), o que indica que há uma menor formação de

clorofórmio nos ensaios realizados na sua presença. Esta observação fica bem ilustrada pelos baixos valores de concentração de clorofórmio observados nos experimentos 5 a 8 e 13 a 16, realizados na presença de brometo.

TABELA 16 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO CLOROFÓRMIO

EFEITOS DE PRIMEIRA ORDEM		EFEITOS DE SEGUNDA ORDEM		EFEITOS DE TERCEIRA ORDEM	
AH	6,03	AH x NaClO	4,45	AH x NaClO x KBr	4,23
NaClO	6,78	AH x KBr	5,80	AH x NaClO x T	4,05
KBr	-10,2	AH x T	2,28	AH x NaClO x pH	0,03
T	0,2	AH x pH	2,10	AH x KBr x T	2,75
pH	4,78	NaClO x KBr	6,05	AH x KBr x pH	1,88
t₉₅ % x s	0,9	NaClO x T	1,88	AH x T x pH	6,05
		NaClO x pH	2,75	NaClO x KBr x T	2,10
		KBr x T	0,03	NaClO x KBr x pH	2,28
		KBr x pH	4,05	NaClO x T x pH	5,80
		T X pH	4,23	KBr x T x pH	4,45
		t₉₅ % x s	0,9	t₉₅ % x s	0,9

A concentração do ácido húmico apresenta um efeito significativo e positivo de primeira ordem (6,03), o que significa que ao aumentar a concentração do substrato a formação do clorofórmio é favorecida. Uma explicação para este fato é que com o aumento da concentração de ácido húmico há um aumento proporcional nos quantidade de sítios reativos para o ataque do hipoclorito de sódio (que também apresentou um efeito significativo e positivo de 6,78) e consequentemente há o favorecimento para a maior formação de produtos, no caso clorofórmio.

Dos demais efeitos de primeira ordem, a temperatura foi a única variável a não apresentar efeito sob a formação do clorofórmio. Isto significa que a mudança de 10 °C para 30 °C não afeta a concentração do clorofórmio, após os 120 minutos de reação.

O maior efeito de ordem superior (6,05) pode ser atribuído ao efeito de segunda ordem entre a concentração de hipoclorito de sódio e de brometo de potássio ou ao

efeito de terceira ordem das variáveis concentração de ácido húmico, temperatura e pH. Porém, quando uma variável não apresenta um efeito de primeira ordem significativo, dificilmente será significativo em ordens superiores (NETO *et al*, 2010). Por esse motivo, a variável “Temperatura” dificilmente influenciará nos efeitos de interação de segunda e terceira ordem, o que faz com que o referido efeito seja de segunda ordem, devido à interação “NaClO x Br”.

Na FIGURA 23 se apresenta a representação geométrica desta interação de segunda ordem, a qual mostra que a formação de clorofórmio só é favorecida por maiores concentrações de hipoclorito quando na ausência de íon brometo.

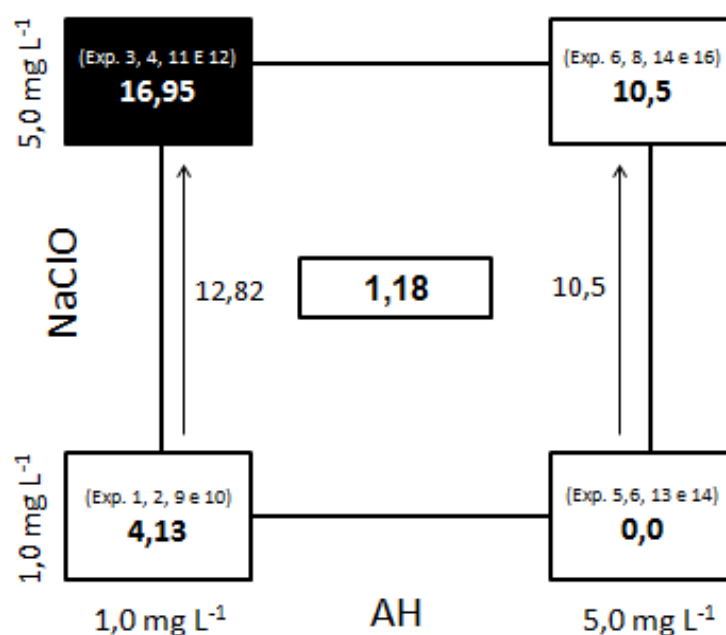


FIGURA 23 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE A CONCENTRAÇÃO DO HIPOCLORITO DE SÓDIO E DO BROMETO DE POTÁSSIO

Por outro lado, um efeito significativo de valor igual a 4,23 pode ser atribuído ao efeito de terceira ordem correspondente a interação entre a concentração de ácido húmico, de hipoclorito de sódio e de brometo de potássio, conforme representado na FIGURA 24. Para melhor visualização, foi destacada a face posterior do cubo, onde se encontram as condições dos experimentos que formaram maior concentração de clorofórmio, principalmente os experimentos 4 e 12, correspondentes a maior concentração de ácido húmico e hipoclorito de sódio, e menor concentração de brometo de potássio.

De maneira geral, observa-se que a geração de clorofórmio é favorecida na presença de maiores concentrações de ácido húmico e de hipoclorito de sódio, assim como na ausência de brometo de potássio (experimentos 4 e 12).

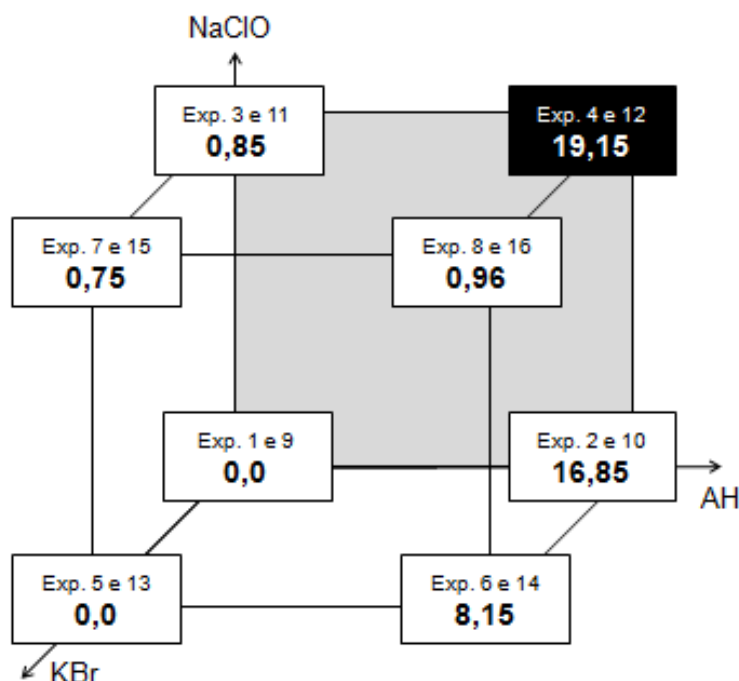


FIGURA 24 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO SIGNIFICATIVO DE TERCEIRA ORDEM ENTRE CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO, HIPOCLORITO DE SÓDIO E BROMETO DE POTÁSSIO

Em relação aos THM bromados, também foram calculados efeitos de primeira, segunda e terceira ordem, encontrando-se os resultados apresentados nas tabelas 17 (bromodiclorometano), 18 (dibromoclorometano) e 19 (bromofórmio).

Na geração de bromodiclorometano (TABELA 17) nenhuma das variáveis estudadas apresentou significância com 95 % de confiança, basicamente em função da sua presença somente ter sido observada em poucos ensaios (ver TABELA 15). Trata-se de uma observação relevante, na medida em que sugere o favorecimento de produtos com maior número de átomos de bromo.

TABELA 17 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO BROMODICLOROMETANO

EFEITOS DE PRIMEIRA ORDEM		EFEITOS DE SEGUNDA ORDEM		EFEITOS DE TERCEIRA ORDEM	
AH	0,95	AH x NaClO	0,95	AH x NaClO x KBr	0,95
NaClO	1,48	AH x KBr	0,95	AH x NaClO x T	1,23
KBr	1,48	AH x T	1,23	AH x NaClO x pH	0,40
T	0,70	AH x pH	0,70	AH x KBr x T	1,23
pH	1,23	NaClO x KBr	1,48	AH x KBr x pH	0,70
t₉₅ % x S	1,9	NaClO x T	0,70	AH x T x pH	1,48
		NaClO x pH	1,23	NaClO x KBr x T	0,70
		KBr x T	0,70	NaClO x KBr x pH	1, 23
		KBr x pH	1,23	NaClO x T x pH	0,95
		T X pH	0,95	Br x T x pH	0,95
		t₉₅ % x S	1,9	t₉₅ % x S	1,9

Para dibromoclorometano (TABELA 18), foi verificado que três variáveis apresentam efeitos significativos de primeira ordem: concentração de hipoclorito de sódio, concentração de brometo de potássio e temperatura.

O efeito significativo e positivo do brometo de potássio e do hipoclorito de sódio é bastante evidente. Entretanto, a existência de um efeito de segunda ordem obriga a uma interpretação conjunta, o que é facilitado pela representação apresentada na FIGURA 25. Esta representação demonstra que o positivo efeito do brometo só é relevante para elevadas concentrações de hipoclorito, o que sugere que a presença do íon hipoclorito é fundamental para a formação do íon hipobromito e, conseqüentemente, para a formação de THM bromados.

A este respeito, é importante salientar que nas condições de cloração o íon brometo é oxidado a hipobromito, espécie esta que é mais reativa do que o hipoclorito frente os compostos orgânicos precursores de THM.

TABELA 18 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO DIBROMOCLOROMETANO

EFEITOS DE PRIMEIRA ORDEM		EFEITOS DE SEGUNDA ORDEM		EFEITOS DE TERCEIRA ORDEM	
AH	3,13	AH x NaClO	3,38	AH x NaClO x KBr	3,38
NaClO	5,45	AH x KBr	3,13	AH x NaClO x T	2,90
KBr	6,70	AH x T	3,15	AH x NaClO x pH	4,28
T	4,03	AH x pH	3,28	AH x KBr x T	3,15
pH	2,90	NaClO x KBr	5,45	AH x KBr x pH	3,28
t₉₅ % X S	3,6	NaClO x T	3,28	AH x T x pH	5,45
		NaClO x pH	3,15	NaClO x KBr x T	3,28
		KBr x T	4,28	NaClO x KBr x pH	3,15
		KBr x pH	2,90	NaClO x T x pH	3,13
		T X pH	3,38	KBr x T x pH	3,38
		t₉₅ % X S	3,6	t₉₅ % X S	3,6

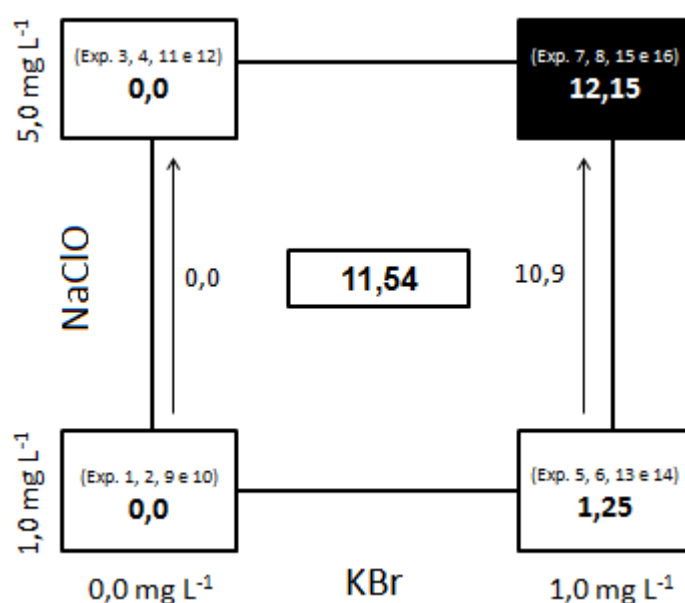


FIGURA 25 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE A CONCENTRAÇÃO DE HIPOCLORITO DE SÓDIO E DE BROMETO DE POTÁSSIO, PARA A FORMAÇÃO DO DIBROMOCLOROMETANO

Outro efeito significativo de ordem superior bastante evidente pode ser atribuído ao efeito de interação entre concentração de brometo de potássio e temperatura, que está representado na FIGURA 26. Estes resultados demonstram que o favorável efeito da temperatura na formação desta espécie dibromada somente se manifesta na presença de brometo em solução.

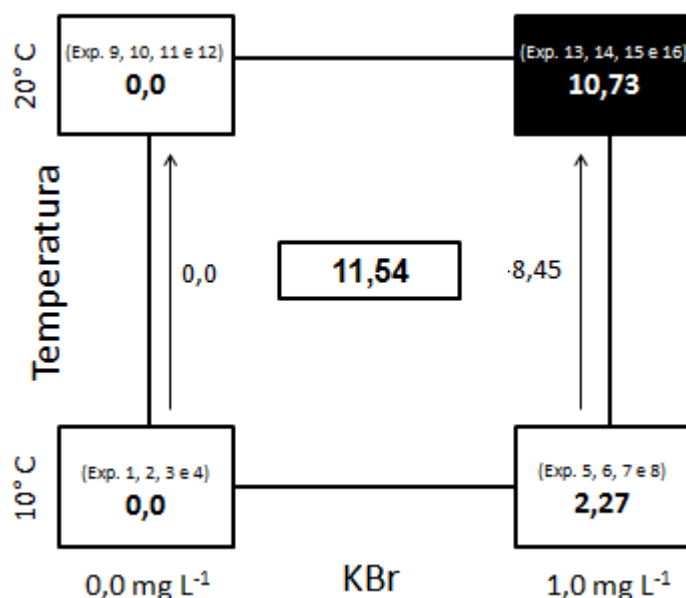


FIGURA 26 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO SIGNIFICATIVO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE AS VARIÁVEIS TEMPERATURA E CONCENTRAÇÃO DE BROMETO DE POTASSIO

Para bromofórmio, todas as variáveis apresentaram significativos efeitos de primeira ordem (TABELA 19). Adicionalmente, os efeitos de segunda e terceira ordem tiveram significância, o que demonstra a complexidade deste sistema químico.

Estes resultados demonstram o positivo efeito de todas as variáveis estudadas na geração de clorofórmio (na ausência de brometo) e de THM bromados (na presença de brometo). Assim, os estudos subsequentes, orientados a avaliar a cinética do processo, foram realizados com as maiores concentrações de NaClO e ácido húmico e com os maiores valores de temperatura e pH.

TABELA 19 – EFEITOS DE PRIMEIRA, SEGUNDA E TERCEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DO BROMOFÓRMIO

EFEITOS DE PRIMEIRA ORDEM		EFEITOS DE SEGUNDA ORDEM		EFEITOS DE TERCEIRA ORDEM	
AH	4,44	AH x NaClO	7,25	AH x NaClO x KBr	7,25
NaClO	7,87	AH x KBr	4,44	AH x NaClO x T	5,42
KBr	12,94	AH x T	3,5	AH x NaClO x pH	8,7
T	8,70	AH x pH	4,51	AH x KBr x T	3,5
pH	5,42	NaClO x KBr	7,87	AH x KBr x pH	4,51
t ₉₅ % x s	3,4	NaClO x T	4,51	AH x T x pH	7,87
		NaClO x pH	3,5	NaClO x KBr x T	4,51
		KBr x T	8,7	NaClO x KBr x pH	3,5
		KBr x pH	5,42	NaClO x T x pH	4,44
		T x pH	7,25	KBr x T x pH	7,25
		t ₉₅ % x s	3,4	t ₉₅ % x s	3,4

5.3.1 Cinética de formação dos Tri-halometanos

Para a avaliação da formação dos THM foram realizados dois experimentos distintos, com e sem a presença de íons brometos, a fim de avaliar a influência destes íons na formação dos quatro THM.

Na ausência de brometos a formação de THM bromados pode ser atribuída a impurezas presentes no hipoclorito de sódio. Entretanto, nas condições em que este estudo foi realizado, a concentração de THM bromados foi muito baixa, usualmente inferior ao limite de detecção do método cromatográfico utilizado como controle.

Assim, na ausência de brometo a concentração de THM totais corresponde praticamente ao teor de clorofórmio, cuja formação é representada em função do tempo na FIGURA 27. Tendo em vista o perfil observado, os dados foram submetidos a modelagem em função do decaimento exponencial de primeira ordem, obtendo-se a curva também apresentada na FIGURA 27.

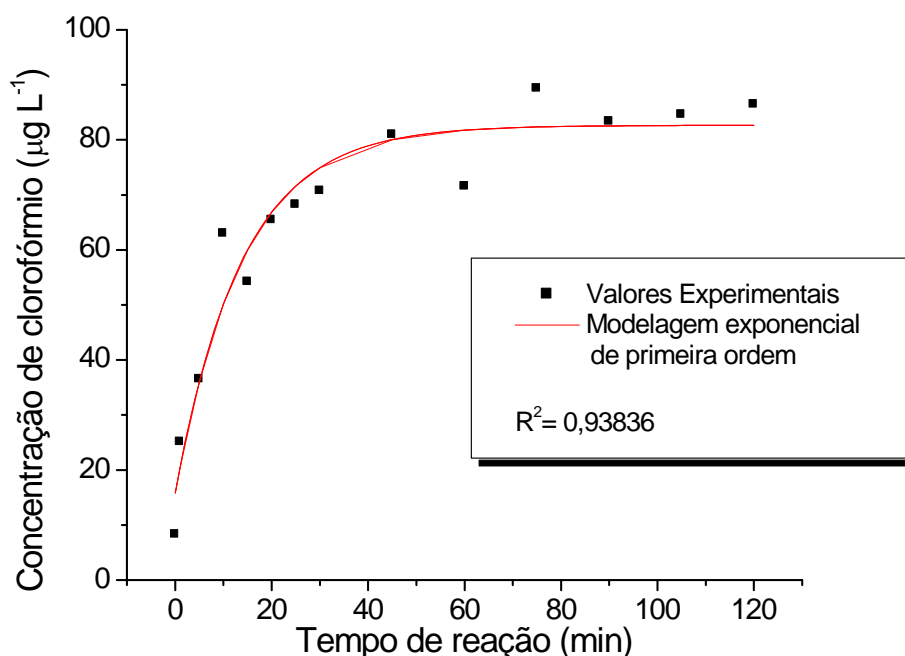


FIGURA 27 – EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DE CLOROFÓRMIO DURANTE A CLORAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO NA AUSÊNCIA DE ÍONS BRÔMETOS

A curva modelada é descrita por uma equação do tipo:

$$y = ae^{(bx)} + c \text{ (onde } b = 1/t\text{)}.$$

Nesta expressão, o coeficiente “**a**” promove deslocamentos horizontais da curva, de forma que quanto maior o módulo de **a**, mais afastada do eixo y a curva se torna. Além disso, valores de **a** < 0 promovem uma reflexão em relação ao eixo x, o que neste caso explica por que a curva do gráfico é crescente, apesar de ser um decaimento exponencial.

O parâmetro “**b**” define se a curva exponencial representa um crescimento (**b** > 0) ou um decaimento (**b** < 0). Adicionalmente, o módulo de **b** define a intensidade da curva exponencial – quanto maior, mais íngreme é a curva.

O parâmetro “**c**” define deslocamentos verticais da curva, sendo assim: se **c** > 0, o gráfico sofre um deslocamento vertical para cima, por outro lado se **c** < 0, o gráfico sofre um deslocamento vertical para baixo.

Para a curva que representa a formação de clorofórmio, os coeficientes da função exponencial obtidos foram:

$$a = -66,8 \pm 5,20$$

$$t = 1/b = -13,87 \pm 2,60$$

$$c = 82,65 \pm 2,90$$

A fim de diminuir a interferência dos erros aleatórios da cromatografia na interpretação da formação de THM em função do tempo, a concentração final de THM totais após duas horas de reação foi determinada a partir desta modelagem. A concentração final obtida neste ensaio foi $82,8 \mu\text{g L}^{-1}$.

Em condições semelhantes foi realizado o segundo experimento, porém na presença de $1,0 \text{ mg L}^{-1}$ de brometo de potássio. Nestas condições foi possível monitorar o surgimento de THM bromados e clorados, observando-se os resultados apresentados na FIGURA 28.

Tal como explicado anteriormente, as curvas de concentração de THM versus tempo foram modeladas como decaimento exponencial. Os resultados experimentais e da modelagem estão representados na FIGURA 28, enquanto que os parâmetros **a**, **t** e **c**, bem como o coeficiente de determinação, R^2 , para cada curva estão apresentados na TABELA 20. Em função do perfil observado é possível supor que a formação de THM não foi concluída em duas horas de reação, sendo esperado algum incremento em suas concentrações caso a reação continuasse.

Com exceção da curva modelada para as concentrações de clorofórmio, este tipo de modelagem se mostrou adequado, permitindo coeficientes de determinação superiores a 0,94. Provavelmente, as deficiências observadas na modelagem da formação de clorofórmio sejam devidas à baixa concentração formada no primeiro minuto de reação e à constância observada até os maiores tempos de cloração praticados (120 min).

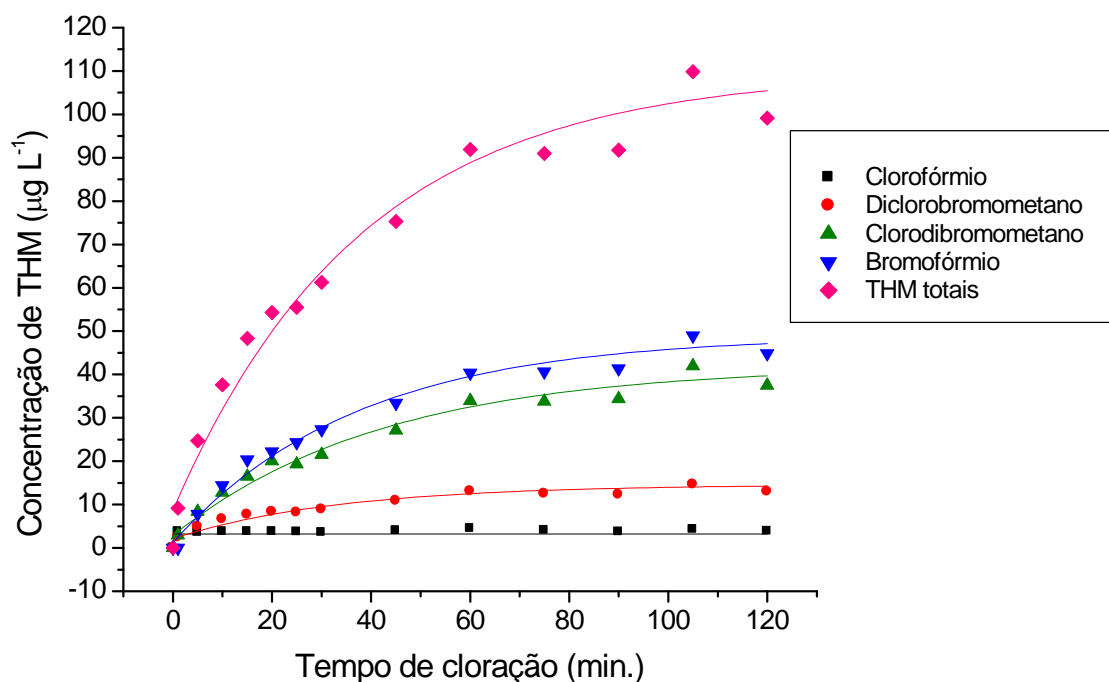


FIGURA 28 – EVOLUÇÃO DA CONCENTRAÇÃO DOS THM (CLOROFÓRMIO, BROMODICLOROMETANO, DIBROMOCLOROMETANO, BROMOFÓRMIO E THM TOTAIS) DURANTE A CLORAÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO NA PRESENÇA DE BROMETO

TABELA 20 – PARÂMETROS DAS EQUAÇÕES DO TIPO “ $y = ae^{bx} + c$ ” QUE EXPLICAM AS CURVAS DA MODELAGEM DE DECAIMENTO EXPONENCIAL DE PRIMEIRA ORDEM PARA A FORMAÇÃO DE THM EM FUNÇÃO DO TEMPO

	Parâmetro			
	a	t (= 1/b)	C	R ²
Clorofórmio	-1,28 +/- 0,31	-5,41·10 ⁹⁶	4,492	-0,13
Bromodiclorometano	-12,47+- 0,65	-33,49 +- 4,03	14,59	0,94
Dibromoclorometano	-39,16 +- 1,21	-42,31 +- 3,08	41,98	0,98
Bromofórmio	-47,79 +- 1,23	-36,93 +- 2,21	48,97	0,98
THM totais	-101,14 +- 3,03	-38,17 +- 2,90	109,8	0,97

A partir destes resultados é possível inferir que na ausência de brometo a reação é mais rápida, tendo sido praticamente concluída em 60 min (FIGURA 27). Esta diferença de velocidade na formação dos THM é bem ilustrada pelos valores do módulo do coeficiente “t” ($t = 1/b$). Na ausência de brometo a formação de clorofórmio ocorre

rapidamente, o que faz com que o valor de $|t|$ seja aproximadamente a metade dos valores observados na formação dos THM bromados.

Utilizando o valor observado na modelagem matemática, foram obtidas as seguintes concentrações de THM ao final dos 120 minutos de reação: $3,05 \mu\text{g L}^{-1}$ de clorofórmio, $14,27 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromodiclorometano, $39,53 \mu\text{g L}^{-1}$ de dibromoclorometano, $47,05 \mu\text{g L}^{-1}$ de bromofórmio e $105,38 \mu\text{g L}^{-1}$ de THM totais.

Com base nestes resultados é possível constatar uma significativa predominância dos THM bromados sobre o clorofórmio. Este último, único THM que não contém bromo, é formado em pequena concentração (menor que $5 \mu\text{g L}^{-1}$), a qual permanece praticamente constante durante todo o tempo monitorado. Em contrapartida, o bromofórmio, composto por três átomos de bromo, tem um constante aumento na sua concentração durante os 120 minutos.

Observou-se, adicionalmente, que nas condições estudadas a concentração final dos THM monitorados segue uma tendência em relação ao número de átomos de bromo na estrutura. Isto é, quanto mais átomos de bromo, maior a concentração final. Ichihashi *et al* (1999) relata que esse comportamento é observado quando a razão molar entre o hipobromito e o hipoclorito está acima de 0,1, em concordância com o resultado ora apresentado, uma vez que a razão molar utilizada nestes experimentos foi de 0,14.

Nokes *et al* (1999) explicam que essa competição ocorre porque o íon brometo é rapidamente oxidado a ácido hipobromoso ou íon hipobromito, que uma vez formado, promove reações análogas às que acontecem com o cloro; Sendo assim, a formação de subprodutos bromados em geral, depende da razão $[\text{Br}^-]:[\text{Cl}^-]$. Ichihashi *et al* (1999) propuseram que inicialmente há a formação de um carbânion mono-halogenado, formado principalmente pela reação com o íon OCl^- , e que na presença de hipoclorito e hipobromito há uma reação mais efetiva entre o hipoclorito e o ácido húmico, o que gera precursores para uma reação de substituição eletrofílica com o hipobromito, gerando então, THM bromados.

A partir deste conjunto de resultados é possível notar, ainda, que a presença de brometo em solução permite a formação de uma maior quantidade de THM totais, embora a quantidade de oxidante disponível seja a mesma. A este respeito, Meyer (1994) comenta que “o bromo tem vantagens sobre o cloro nas reações de substituição com os compostos orgânicos, mesmo que o cloro esteja presente em excesso quando comparado ao bromo inicial”. Este aumento na formação dos THM bromados é

preocupante, uma vez que eles apresentam maior potencial carcinogênico, conforme retratado nos trabalhos de Bull *et al* (1995), Nokes *et al* (1999), Richardson *et al* (2007), Dyck *et al* (2011), Chowdhury (2013), Chowdhury *et al* (2014), e ainda ressaltam que este risco está vinculado não apenas à ingestão da água contendo THM, mas também ao contato dermal e a inalação.

Paralelamente, a degradação do ácido húmico durante a reação de cloração foi monitorada por espectroscopia de fluorescência molecular, observando-se os resultados apresentados na FIGURA 29.

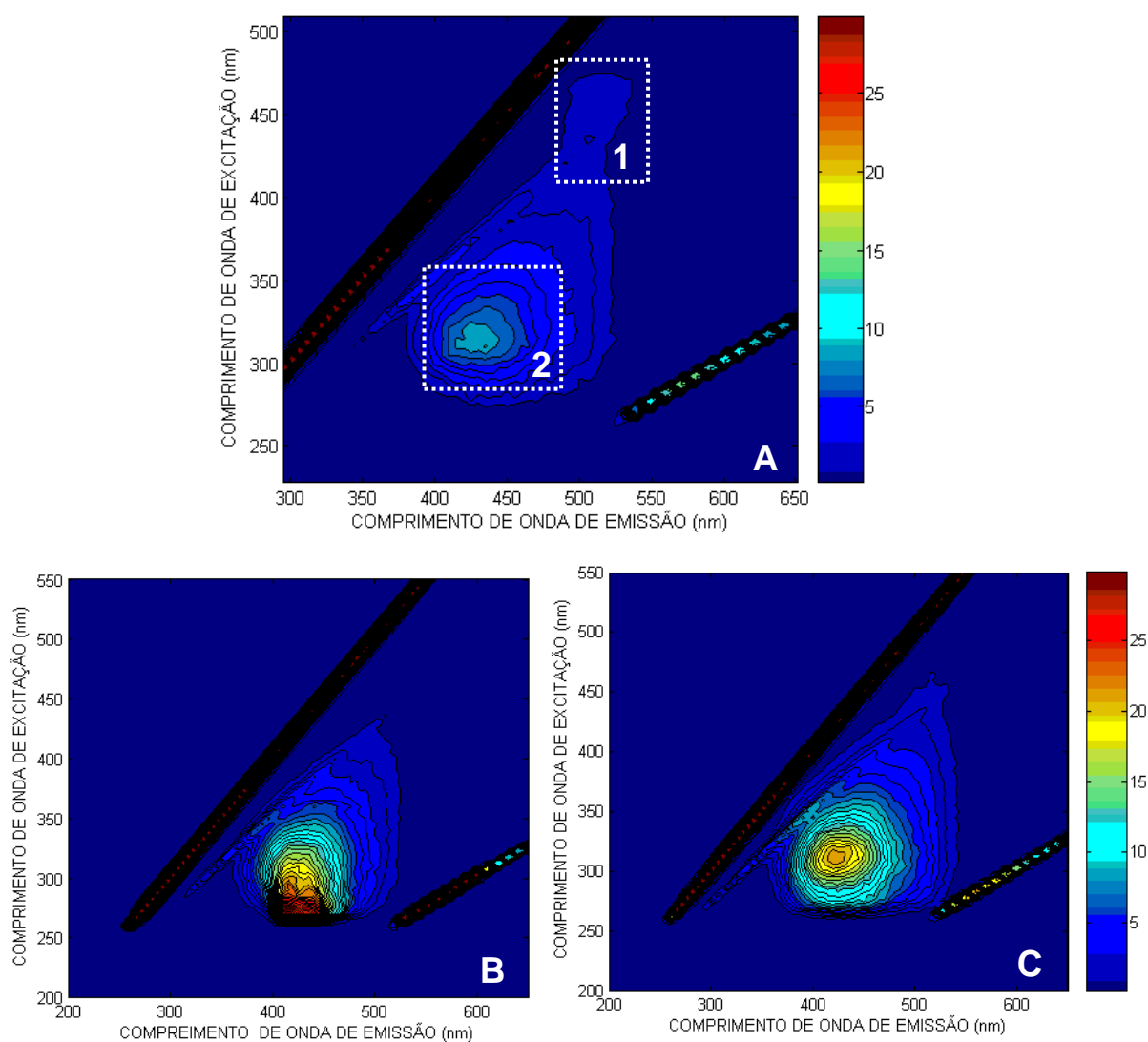


FIGURA 29 – ESPECTROS TRIDIMENSIONAIS DE FLUORESCÊNCIA MOLECULAR DO ÁCIDO HÚMICO, RESPECTIVAMENTE, NOS TEMPOS ZERO (A), 15 (B) E 45 MINUTOS (C) DA REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA AUSÊNCIA DE BROMETOS

Nesta sequência de espectros é possível observar a mudança estrutural do ácido húmico, processo que ocorre em duas etapas. No primeiro momento, observa-se que o sinal de fluorescência registrado em regiões de maior comprimento de onda (Região 1), comumente associado à presença de anéis aromáticos condensados e de espécies insaturadas com elevado grau de conjugação e massa molar, diminui de intensidade, ao mesmo tempo em que aumenta o sinal de fluorescência na região de menor comprimento de onda (Região 2). Estas modificações sugerem a quebra de anéis aromáticos e a consequente formação de estruturas alifáticas fluorescentes.

O segundo momento ocorre quando a intensidade de fluorescência na região atribuída às cadeias alifáticas também decresce, o que sugere a cloração das estruturas alifáticas e a supressão de grupos fluoróforos.

Westerhoff *et al*, (2004) observaram que praticamente todas as frações que fazem parte da MON apresentam reatividade frente à cloração. Todavia, estima-se que a fração aromática reage mais facilmente que a fração alifática, com exceção de frações aromáticas que têm a presença de grupos carboxi e metoxi, usualmente menos reativas. De acordo com Gallard e Gunten (2002), as estruturas m-di-hidroxibenzeno (resorcinol), β -dicetonas e β -cetoácidos são as que reagem mais rapidamente com o cloro.

A fim de melhor visualizar a mudança estrutural do ácido húmico durante o processo de cloração, foram realizados experimentos adicionais utilizando-se uma maior concentração de substrato e de hipoclorito de sódio (50 mg L^{-1}).

Nos espectros de fluorescência sincronizada é possível observar um processo similar na ausência (FIGURA 30) e na presença (FIGURA 31) de íons brometos, processo degradativo este que envolve decaimento da intensidade do sinal registrado na região de maior comprimento de onda (região de aromáticos condensados) e aumento proporcional da intensidade na região de menor comprimento de onda (alifáticos). Este comportamento sugere que a reação é iniciada com o ataque do oxidante às estruturas aromáticas condensadas, o que provoca desestabilização da estrutura, quebra de anéis e formação de estruturas alifáticas mais estáveis, que fluorescem em menores comprimentos de onda.

Como comentado anteriormente, a presença de halogênios tende a diminuir a intensidade de fluorescência, efeito supressor que é mais intenso na presença de bromo. Este efeito explica a menor intensidade de fluorescência observada na presença de brometo.

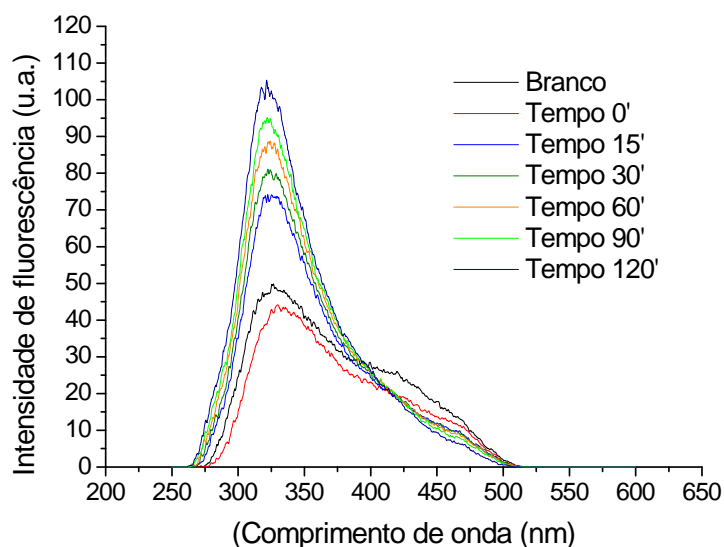


FIGURA 30 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) PARA A REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA AUSÊNCIA DE ÍONS BROMETOS MONITORADA DURANTE 120 MINUTOS

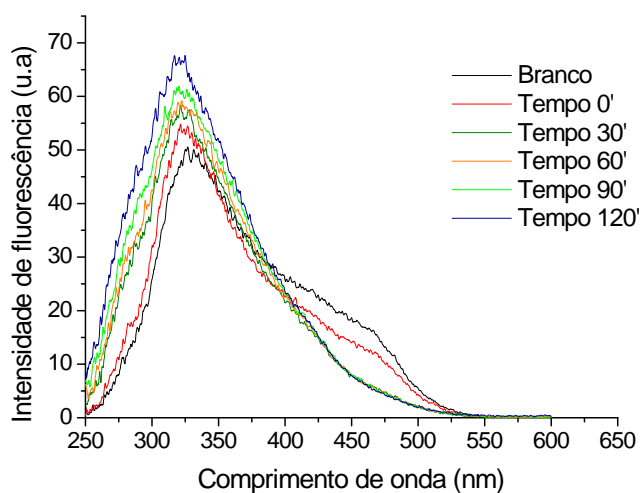


FIGURA 31 - ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) PARA A REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA PRESENÇA DE ÍONS BROMETOS MONITORADA DURANTE 120 MINUTOS

Utilizando-se espectroscopia UV-Vis (FIGURA 32) foram observados resultados bastante similares, na ausência e presença de brometo. Neste caso, a diminuição da intensidade na região UV pode ser atribuída a quebra de estruturas com

maior conjugação π (CHEN *et al*, 2002), tal qual foi observado nos espectros de fluorescência molecular.

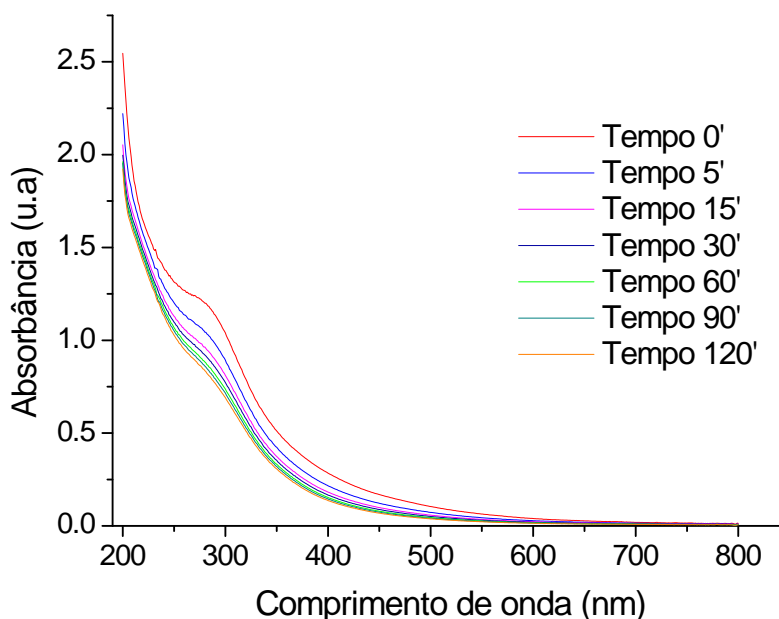


FIGURA 32 – ESPECTROS ELETRÔNICOS PARA A REAÇÃO DE CLORAÇÃO NA PRESENÇA DE ÍONS BROMETOS MONITORADA DURANTE 120 MINUTOS

5.4 INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA NA ESTRUTURA DO ÁCIDO HÚMICO

Antes de avaliar a influência da radiação UV no processo de desinfecção com cloro foram realizados experimentos para avaliar o efeito da radiação ultravioleta na estrutura do substrato modelo. Este estudo preliminar foi realizado com solução aquosa de ácido húmico ($50,0 \text{ mg L}^{-1}$) e processos de irradiação de até 120 min, utilizando-se uma lâmpada germicida de 9 W.

Na presença de brometo ($10,0 \text{ mg L}^{-1}$) o monitoramento por fluorescência sincronizada permitiu verificar mudanças estruturais na molécula modelo, mudanças estas que implicam diminuição da intensidade do sinal centrado em 330 nm e do ombro localizado entre 400 e 500 nm (FIGURA 33). Em uma primeira análise, supõe-se que as estruturas aromáticas são desestabilizadas (400 – 500 nm), o que leva à formação de estruturas alifáticas não necessariamente fluorescentes.

Na ausência de brometo (FIGURA 34) foi observado um comportamento similar, com algumas diferenças na região próxima a 470 nm. Neste caso, o surgimento de um ombro pode indicar a formação de espécies com maior condensação aromática (sete anéis condensado), que fluorescem na região próxima a 475 nm (PEURAVUORI *et al* 2002).

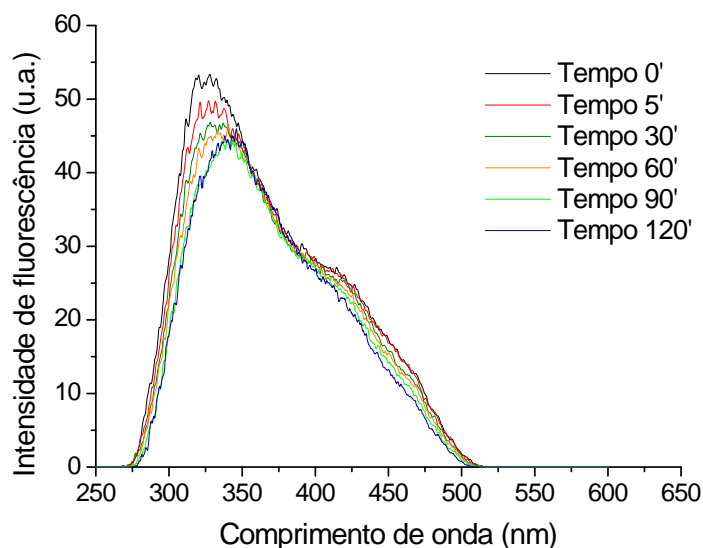


FIGURA 33 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) OBTIDOS APÓS A EXPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO CONTENDO ÍONS BROMETOS, A UMA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA UVC DE 9 W DURANTE 120 MINUTOS

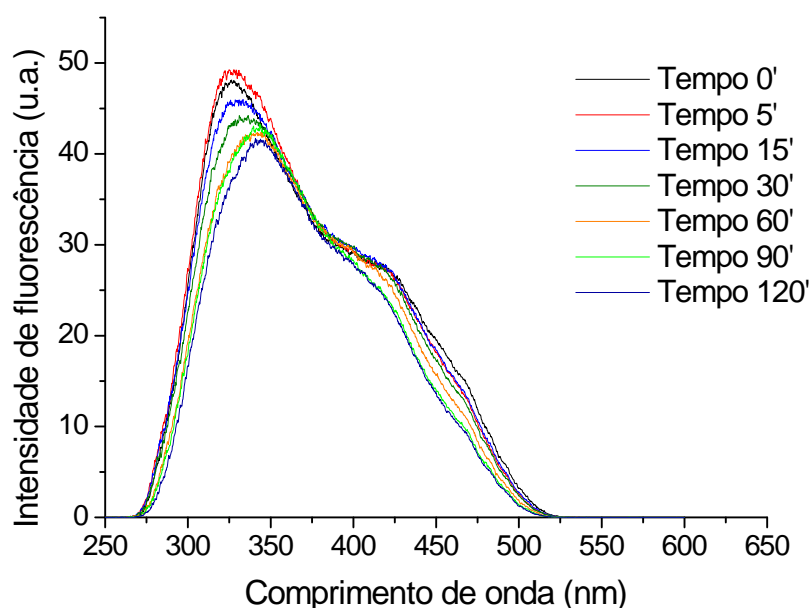


FIGURA 34 – ESPECTROS DE FLUORESCÊNCIA SINCRONIZADA ($\Delta\lambda = 18$ nm) OBTIDOS APÓS A EXPOSIÇÃO DA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO A UMA RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA UVC DE 9 W DURANTE 120 MINUTOS

Com o uso de espectroscopia UV-Vis (FIGURA 35) foi possível observar somente o decaimento de sinal na região características de compostos aromáticos (entre 250 e 260 nm), tanto na ausência como na presença de brometo. Após 120 min de exposição foi registrada uma diferença de 0,2 unidades de absorbância em 254 nm, indicando que as estruturas aromáticas estão sendo afetadas pela radiação ultravioleta.

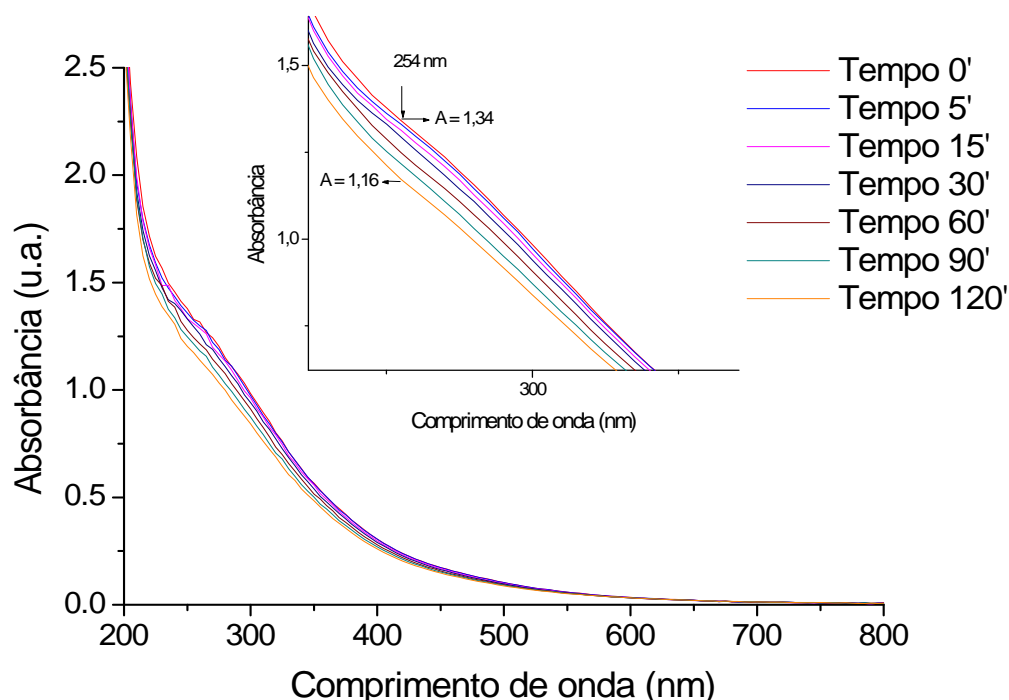


FIGURA 35 – ESPECTRO UV-VIS DA SOLUÇÃO DE ÁCIDO HÚMICO, CONTENDO ÍONS BROMETOS, EXPOSTO A RADIAÇÃO ULTRAVIOLETA (9 W) DURANTE 120 MINUTOS

Allard *et al* (1994) relatam que a exposição do ácido húmico a radiação provoca a quebra da molécula e, conseqüentemente, a redução da massa molar. De acordo com estas observações, tratamentos prolongados (30 h) podem reduzir em cerca de 95 % a concentração de carbono orgânico total, o que, de acordo com Kulovaara *et al* (1996), implica eficiente mineralização.

A este respeito, Schuchmann e Sonntag⁹ (1973) (apud MALLEY *et al*, 1995) sugerem que a radiação UV ataca, em sequência, ligações duplas entre carbonos, ligações simples entre carbono e oxigênio, ligações simples entre carbonos e ligações entre oxigênio e hidrogênio. Contudo, deve-se levar em consideração o comprimento

⁹ SCHUCHMANN, H. P.; SONNTAG, C. V.; **UV Photolysis**. Tetrahedron, n° 29, 1973, p.1811-1816.

de onda da radiação incidida, o tempo de exposição e a intensidade, entre outros fatores que são considerados determinantes para essas reações.

5.4.1 Pré-tratamento com radiação Ultravioleta na formação dos Tri-halometanos

A influência da radiação UVC na formação de THM foi avaliada por dois planejamentos fatoriais 2^2 , levando-se em consideração a potência da lâmpada (P) e o tempo de exposição (t) da solução à radiação UVC. Os planejamentos 2^2 são compostos por quatro experimentos cada, além dos pontos centrais que foram ensaiados em triplicata, conforme apresentado na TABELA 21.

TABELA 21 – PLANEJAMENTOS FRACIONÁRIOS 2^2 PARA A ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UVC NA FORMAÇÃO DOS THM

	P	t	Pxt
1	-	-	+
2	+	-	-
3	-	+	-
4	+	+	+
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0

No primeiro planejamento, realizado sem adição de brometo, não foram detectados THM bromados, o que fez com que a concentração de THM totais fosse representada pela concentração de clorofórmio (TABELA 22). A partir destes resultados foram calculados os efeitos apresentados na TABELA 23, os quais foram confrontados com a estimativa do desvio padrão, avaliada na triplicata do ponto central.

TABELA 22 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UVC NA FORMAÇÃO DE THM A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO SEM BROMO (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$)

	THM's totais	Clorofórmio
1	74,5	74,5
2	95,1	95,1
3	52,1	52,1
4	39,0	39,0
5	79,1	79,1
6	90,4	90,4
7	62,3	62,3

De acordo com os resultados apresentados na TABELA 23 o efeito negativo do tempo de irradiação na formação de THM é evidente, o que implica na redução da formação de THM em sistemas irradiados por um tempo maior. Entretanto, a existência de um significativo efeito de segunda ordem implica que o efeito das variáveis não é isolado, existindo uma interação que pode ser mais bem visualizada na representação geométrica apresentada na FIGURA 36.

TABELA 23 – EFEITOS PRINCIPAIS E DE SEGUNDA ORDEM CALCULADOS COM BASE NO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A FORMAÇÃO DE THM APÓS UM PRÉ-TRATAMENTO COM RADIAÇÃO UVC EM UMA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO SEM A ADIÇÃO DE ÍONS BROMETOS (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$)

PRIMEIRA ORDEM	
	THM totais
Potência	3,76
Tempo	-39,26
Estimativa do Desvio padrão	14,16
SEGUNDA ORDEM	
Potência X Tempo	16,89
Estimativa do Desvio padrão	14,16

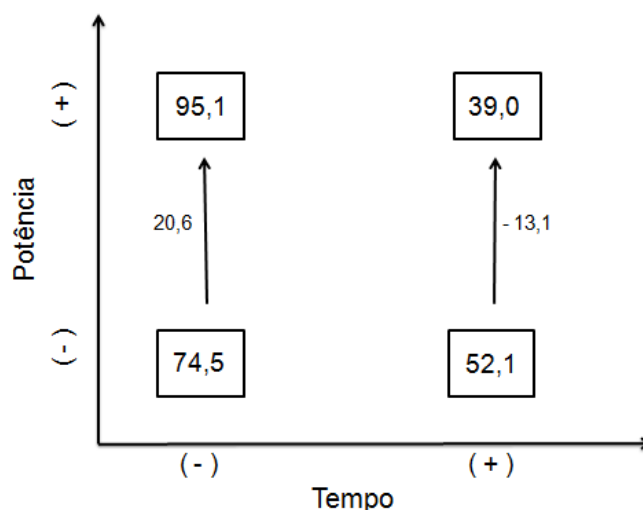


FIGURA 36 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA DO EFEITO DE SEGUNDA ORDEM EXISTENTE ENTRE POTÊNCIA E TEMPO DE EXPOSIÇÃO, PARA OS ENSAIOS DE PRÉ-TRATAMENTO COM RADIAÇÃO UVC EM SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO SEM A ADIÇÃO DE ÍONS BROMETOS

De acordo com esta representação, o efeito de interação faz com que o aumento da potência da radiação diminua significativamente a formação de THM quando maiores tempos de tratamento são praticados, o que permite supor a degradação preliminar de estruturas precursoras de THM. Por outro lado, o aumento da potência leva à geração de uma maior quantidade de THM para menores tempos de tratamento, o que sugere uma degradação parcial do substrato, com formação de espécies de maior atividade frente ao agente de cloração.

No segundo planejamento (TABELA 24), realizado na presença de brometos, foi observada uma maior formação de THM, especialmente bromados, em relação ao processo sem o pré-tratamento por irradiação. Neste caso, elevadas concentrações de bromodiclorometano e dibromoclorometano foram observadas, o que é completamente oposto ao observado nos sistemas não irradiados.

Levando-se em consideração a estimativa do desvio padrão e o coeficiente de Student (células destacadas em azul), é possível admitir, com 90 % de confiança, que nenhuma das variáveis apresenta efeitos significativos de primeira ordem, para a formação de qualquer um dos quatro THM monitorados (TABELA 25). Contudo, deve-se dar atenção aos efeitos de interação entre potência e tempo, que neste planejamento foram significativas para o bromodiclorometano e o dibromoclorometano.

TABELA 24 – RESULTADOS DO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A INFLUÊNCIA DA RADIAÇÃO UVC NA FORMAÇÃO DE THM A PARTIR DE SOLUÇÕES AQUOSAS DE ÁCIDO HÚMICO CONTENDO BROMO (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$)

	Clorofórmio	Bromodiclorometano	Dibromoclorometano	Bromofórmio	THM totais
1	14,4	41,8	70,7	56,7	183,6
2	9,4	29,1	51,9	37,7	128,1
3	6,5	21,1	54,5	38,0	120,1
4	19,5	44,8	70,4	55,3	190,0
5	24,1	44,6	56,1	21,5	146,2
6	10,7	39,1	66,6	63,6	180,7
7	17,1	39,6	65,2	51,7	173,6

A representação geométrica desse efeito de interação (FIGURA 37) mostra que o aumento do tempo de tratamento diminui a formação de bromodiclorometano e dibromoclorometano, desde que baixas potências de radiação sejam utilizadas. Com o uso de maior potência, a concentração destes THM bromados aumenta com o tempo de exposição, o que se mostra inconveniente.

Este resultado é o inverso do observado no tratamento na ausência de brometo, em que a concentração de clorofórmio poder ser minimizada pelo uso de maior potencia e maiores tempos de exposição.

TABELA 25 – EFEITOS PRINCIPAIS E DE SEGUNDA ORDEM CALCULADOS COM BASE NO PLANEJAMENTO FATORIAL 2^2 UTILIZADO PARA AVALIAR A FORMAÇÃO DE THM APÓS UM PRÉ-TRATAMENTO COM RADIAÇÃO UVC EM UMA SOLUÇÃO AQUOSA DE ÁCIDO HÚMICO COM A ADIÇÃO DE ÍONS BROMETOS (CONCENTRAÇÃO DE THM EM $\mu\text{g L}^{-1}$)

EFEITOS DE PIMEIRA ORDEM				
	Clorofórmio	Bromodiclorometano	Dibromoclorometano	Bromofórmio
Potência	3,98	5,49	-1,47	0,86
Tempo	1,45	-5,15	1,18	-0,56
t x s	19,48	8,81	16,70	63,33
EFEITOS DE SEGUNDA ORDEM				
	Clorofórmio	Bromodiclorometano	Dibromoclorometano	Bromofórmio
Potência x Tempo	8,97	18,2	17,41	18,11
t x s	19,48	8,81	16,70	63,33

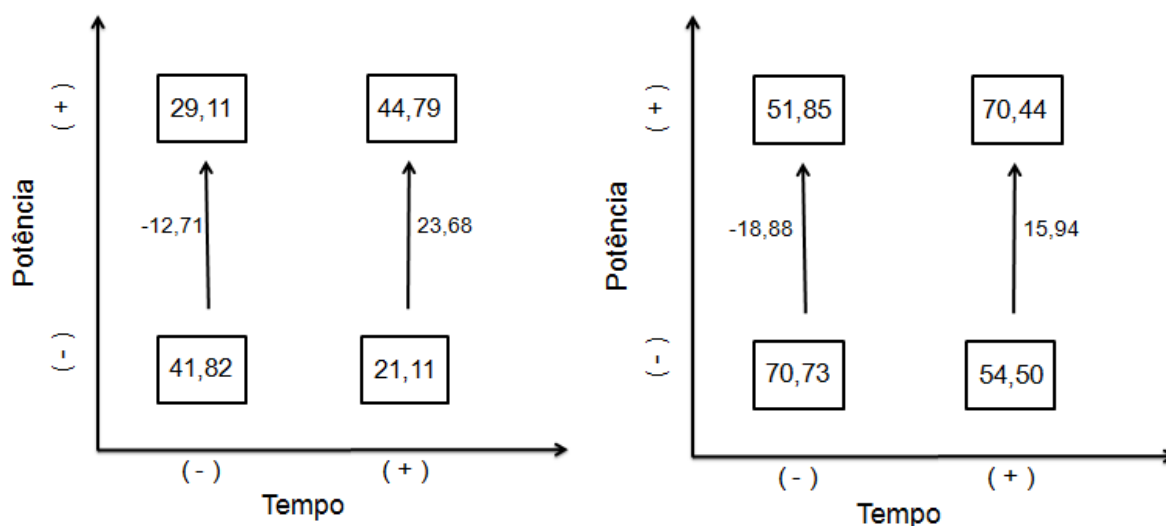


FIGURA 37 – REPRESENTAÇÃO GEOMÉTRICA PARA O EFEITO SIGNIFICATIVO DE SEGUNDA ORDEM ENTRE POTÊNCIA E TEMPO PARA A FORMAÇÃO DO BROMODICLOROMETANO À ESQUERDA, E PARA O DIBROMOCOLOROMETANO À DIREITA

Resultados semelhantes foram obtidos por Liu *et al* (2006), que demonstraram uma clara dependência entre o efeito da radiação ultravioleta e a natureza da matéria orgânica natural contida na água, não apenas em relação à formação de THM, mas também de outros produtos de desinfecção, como ácidos haloacéticos e monocloraaminas. O autor ressalta, portanto, a necessidade de uma avaliação criteriosa antes da instalação de uma unidade de tratamento fundamentada no uso de radiação UV.

Por outro lado, Malley *et al* (1995) observaram que a exposição de águas contendo MON à radiação UV não forma diretamente subprodutos de desinfecção. Contudo, certo incremento na concentração de clorofórmio e de outros subprodutos clorados, como ácidos haloacéticos, foi observado em ensaios envolvendo a cloração posterior.

Em geral, admite-se que a exposição de soluções contendo matéria orgânica natural à radiação UV aumenta significativamente a fração hidrofílica da MON, que é considerada a fração com mais estruturas precursoras de THM. Por sua vez, Teksoy *et al* (2008) observaram que as frações mais biodegradáveis também são precursoras de THM (MALLEY *et al*, 1995; LIU *et al*, 2006).

6 CONSIDERAÇÕES FINAIS E CONCLUSÕES

Inicialmente, foi avaliado o efeito de variáveis experimentais de relevância como temperatura, pH e concentração de ácido húmico, brometo e hipoclorito, na geração de THM (a partir de ácido húmico), utilizando-se um sistema de planejamento fatorial fracionário. Nesta etapa, importantes efeitos de ordem superior foram observados, o que confirma a complexidade do processo.

Resumidamente, os resultados sugerem uma competição entre cloro e bromo pelo substrato, normalmente prevalecendo a formação de THM bromados. Adicionalmente, os resultados sugerem a existência de uma relação entre o número de átomos de bromo no THM e a sua concentração final no processo de cloração, o que favorece a formação da espécie tribromada (bromofórmio).

O monitoramento do substrato modelo durante a cloração permitiu observar substanciais modificações na sua estrutura, principalmente relacionadas à degradação de espécies aromáticas mais condensadas e formação de espécies alifáticas fluorescentes. A exposição à radiação ultravioleta provoca modificações similares na molécula de ácido húmico, entretanto, há indícios da formação de espécies aromáticas condensadas com até sete anéis.

Em geral, a modificação causada pela radiação reduz significativamente a formação de THM na cloração realizada na ausência de brometo. Na presença de brometo, entretanto, a cloração de soluções aquosas de ácido húmico pré-irradiadas, leva a uma maior concentração de THM bromados, o que mostra que as características da água devem ser cuidadosamente avaliadas.

Em função desta última observação é possível concluir que os sistemas de potabilização de água não devam ser universalizados, em razão da geração de subprodutos de desinfecção ser extremamente dependente da natureza química das águas submetidas ao tratamento de potabilização.

REFERÊNCIAS

ADIN, A.; KATZHENDLER, J.; ALKASLASSY, D.; RAV-ACHA, C.; **Trihalomethane formation in chlorinated drinking water: a kinetic model**. Water Research, n°7, 1991, p. 797-805.

AGGAZZOTTI, G.; FANTUZZI, G.; RIGHI, E.; PEDIERI, G.; **Blood and breath analyses as biological indicators of exposure to trihalomethanes in indoor swimming pools**. Science of the Total Environment, n° 217, 1998, p. 155-163.

AHMAD, U. K.; UJANG, Z.; YUSOP, Z.; FONG, T. L.; **Fluorescence technique for the characterization of natural organic matter in river water**. Water Science and Technology, n°9, 2002 p.117-125.

ALLARD, B.; BORÉN, H.; PETTERSSON, C.; ZHANG, G.; **Degradation of humic substances by UV irradiation**. Environment International, n° 1, 1994, p. 97-101.

AMJAD, H.; HASHM, I.; REHMAN, M. S. U.; AWAN, M. A.; GHAFAR, S.; KHAN, Z.; **Cancer and non-cancer risk assessment of trihalomethanes in urban drinking water supplies of Pakistan**. Ecotoxicology and Environmental Safety, n°91, 2013, p. 25-31.

ANVISA. Resolução n° 899, de 29 de maio de 2003. **Determina a publicação do “Guia para validação de métodos analíticos e bioanalíticos”**.

APHA. Standard Methods for the water and wastewater. **American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environmental Federation**, 20th ed Washington, 1999.

ARMSTRONG, B. K.; KRICKER, A.; **The epidemiology of UV induces skin cancer**. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, n° 63, 2001, p. 8-18.

AZEVEDO, J. C. R.; NOZAKI, J.; **Análises de fluorescência de substâncias húmicas extraídas da água, solo e sedimento da Lagoa dos Patos – MS**. Química Nova, n° 6, 2008, p. 1324 – 1329.

BATTERMAN, S.; ZHANG, L.; WANG, S.; FRANZBLAU, A.; **Partition coefficients for the trihalomethanes among blood, urine, water, milk and air**. The Science of the Total Environment, n° 284, 2002, p. 237-247.

BATTERMAN, S.; HUANG, A.; **Sorption of trihalomethanes in foods**. Environmental International, n° 36, 2010, p. 754-762.

BOYCE, S. D.; HORNIG, J. F.; **Reaction pathways of trihalomethanes formation from the halogenations of dihydroxyaromatic model compounds for humic acid**. Environmental Science and Technology, n° 4, 1983, p. 202-211.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. **Inspeção Sanitária em Abastecimento de Água/ Ministério da Saúde – Brasília**: Ministério da saúde, 2006, 84 p. – (Série A. Normas e Manuais Técnicos).

BRASIL. Fundação Nacional de Saúde. **Manual de Saneamento**. 3 ed. Revisada. Brasília: Fundação Nacional de Saúde, 2007, 408p.

BRASIL. Ministério de Estado da Saúde. Portaria n°2914/GM em 12 de dezembro de 2011. **Dispõe sobre os procedimentos de controle e de vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade**.

BUCHANAN, W.; RODDICK, F.; PORTER, N.; DRIKAS, M.; **Fraction of UV, VUV pretreated natural organic matter from drinking water**. Environmental Science & Technology, n°12, 2005, p. 4647-4654.

BUCHANAN, W.; RODDIK, F.; PORTER, N.; **Formation of hazardous by-products resulting from the irradiation of natural organic matter: Comparison between UV and VUV irradiation**. Chemosphere, n°63, 2006, p.1130-1141.

BULL, R. J.; BIRNBAUM, L. S.; CANTOR, K. P.; ROSE, J. B.; BUTTERWORTH, B. E.; PEGRAM, R.; TUOMISTO, J.; **Water Chlorination: Essential process or cancer hazard**. Fundamental and Applied Toxicology, n°28, 1995, p.155-166.

CARO, J.; SERRANO, A.; GALLEGO, M.; **Sensitive headspace gás chromatography-mass spectrometry determination of trihalomethanes in urine**. Journal of Chromatography B, n° 848, 2007, p. 277-282.

CHANG, C.-N.; MA, Y.-S.; ZING, F.-F.; **Reducing the formation of disinfection by-products by pre-ozonation**. Chemosphere, n°46, 2012, p.21-30.

CHARISIADIS, P. and MAKRIS, K.; **A sensitive and fast method for trihalomethanes in urine using gas chromatography-triple quadrupole mass spectrometry**. Journal of Chromatography B, n° 947-948, 2014, p.17-22.

CHEN, J.; GU, B.; LEBOEUF, E. J.; PAN, H.; DAI, S.; **Spectroscopic characterization of the structural and functional properties of natural organic matter fractions.** Chemosphere, n° 48, 2002, p. 59-68.

CHEN, J.; LEBOEUF, E. J.; DAI, S.; BAOHUA, G.; **Fluorescence spectroscopic studies of natural organic matter fractions.** Chemosphere, n° 50, 2003, p. 639- 647.

CHOWDHURY, S.; **Exposure assessment for trihalomethanes in municipal drinking water and risk reduction strategy.** Science of the Total Environment, n° 463-464, 2013, p. 922-930.

CHOWDHURY, S.; AL-HOOSHANI, K.; KARANFIL, T.; **Disinfection byproducts in swimming pool: occurrences, implications and future needs.** Water Research, n° 53, 2014, p. 68-109.

COELHO, A. L.; **Desenvolvimento de procedimento de derivatização fotoquímica para dois glicocorticoides sintéticos (prednisolona e triancinolona acetato) visando à análise espectrofluorométrica de formulações farmacêuticas.** 2004. 119f. Dissertação de mestrado – Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro: PUC, Departamento de Química, RJ. 2004.

CORIN, N.; BACKLUND, P.; KULOVAARA, M.; **Degradation products formed during UV-irradiation of humic waters.** Chemosphere, n°2, 1996, p. 245-255.

CUNHA, T. J.; BASSOI, L. H.; RIBEIRO, P. R. de A.; SIMÕES, M. L.; NETO, L. M.; PETRERE, V. G.; SANTANA, R. O. de; **Características espectroscópicas de ácidos húmicos provenientes de fontes comerciais, em solo fertirrigado, no Vale do São Francisco.** XXXI Congresso Brasileiro de Ciência do Solo. Gramado – RS, 2007.

CUNHA, T. J.; BASSOI, L. H.; SIMÕES, M. L.; NETO, L. M.; PETRERE, V. G.; RIBEIRO, P. R. de; **Ácidos húmicos em solo fertirrigado no vale do São Francisco.** Revista Brasileira de Ciência do Solo, n° 33, 2009, p. 1583-1592.

DAHLÉN, J.; BERTISSON, S.; PETTERSON, C.; **Effects of UV-A irradiation on dissolved organic matter in humic surface water.** Environment International, n°5, 1996, p. 501-506.

DANIEL, L. A.; BRANDÃO, C. C. S.; GUIMARÃES, J. R.; LIBÂNIO, M.; LUCA, S.J.; **Métodos Alternativos de Desinfecção da Água.** São Carlos – SP: RiMa Artes e Textos, 2001.

DATASUS. **Informações de Saúde – Epidemiológicas e Morbidade**. Disponível em <<http://www2.datasus.gov.br/DATASUS/index.php?area=0203>>. Acesso em 30 de março de 2014.

DEBORDE, M.; VON GUNTEN, U.; **Reactions of chlorine with inorganic and organic compounds during water treatment – Kinetics and mechanisms: A critical Review**. Water Research, n° 42, 2008, p. 13-51.

DICK, D. P.; GOMES, J.; ROSINHA, P. B.; **Caracterização de substâncias húmicas extraídas de solos e de lodo orgânico**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, n° 22, 1998, p. 603-611.

DIFFEY, B. L.; **Solar ultraviolet radiation effects on biological systems**. Physics in Medicine and Biology, vol. 36, n°3, 1991, p. 299-328.

DOBBS, L. B.; RUM JANECK, V. M.; BALDOTTO, M. A.; VELLOSO, A. C. X. CANELLAS, L. P.; **Caracterização química e espectroscópica de ácidos húmicos e fúlvicos isolados da camada superficial de latossolos brasileiros**. Revista Brasileira de Ciência do Solo, n° 33, 2009, p. 51-63.

DOJLIDO, J.; ZBIEC, E.; SWIETLIK, R.; **Formation of the haloacetic acids during ozonation and chlorination of water in Warsaw waterworks**. Water Research, n°14, 1999, p. 3111-3118,

DYCK, R.; SADIQ, R.; RODRIGUEZ, M. J.; SIMARD, S.; TARDIF, R.; **Trihalomethane exposures in indoor swimming pools: A level III fugacity model**. Water Research, n° 45, 2011, p. 5084-5098.

FASUROVÁ, N.; POPSPÍŠILOVÁ, L.; **Characterization of soil humics substances by ultraviolet-visible and synchronous fluorescence spectroscopy**. Central European Agriculture Journal, n° 3, 2010, p. 351-358.

FLORENTIN, A.; HAUTEMANIÈRE, A.; HARTEMANN, P.; **Health effects of disinfection by-products in chlorinated swimming pools**. International Journal of Hygiene and Environmental Health, n° 214, 2011, p. 461-469.

FONTANA, A.; **Caracterização química e espectroscópica da matéria orgânica em solos do Brasil**. 2006. 60f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2006.

FONTANA, A.; **Fracionamento da matéria orgânica e caracterização dos ácidos húmicos e sua utilização no Sistema Brasileiro de Classificação de Solos**. 2009. 72f. Tese (Doutorado em Agronomia, Ciência do Solo). Instituto de Agronomia, Departamento de Solos, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2009.

FRANCIOSO, O.; SÀNCHEZ-CORTÉS, S.; TUGNOLI, V.; MARZADORI, C.; CIAVATTA, C.; **Spectroscopic study (DRIFT, SERS and ^1H NMR) of peat, leonardite and lignite humic substances**. Journal of Molecular Structure, n° 565-566, 2001, p. 481-485.

GALAPATE, R. P.; BAES, A. U.; ITO, K.; MUKAI, T.; SHOTO, E.; OKADA, M.; **Detection of domestic waste in Kurose River using synchronous fluorescence spectroscopy**. Water Research, n° 32, 1998, p. 2232-2239.

GALLARD, H.; GUNTEN, U.V.; **Chlorination of natural organic matter: kinetics of chlorination and of THM formation**. Water Research, n° 36, 2002, p. 65-74.

GARCIA-VILLANOVA, R. J.; GARCIA, C.; GOMES, A.; GARCIA, M. P.; ARDANUY, R.; **Formation, evolution and modeling of trihalomethanes in the drinking water of a town: I, at the municipal treatment utilities**. Water Research. N°6, 1997, p. 1299-1308.

GOPAL, K.; TRIPATHY, S. S.; BERSILLON, J. L.; DUBEY, S.P.; **Chlorination byproducts, their toxicodynamics and removal from drinking water**. Journal of Hazardous Materials, n° 140, 2007, p. 1-6.

GRUIJL, F. R.; **Skin cancer and solar UV radiation**. European Journal of Cancer, n°14, 1999, p. 2003-2009.

GUAY, C.; RODRIGUEZ, M.; SÉRODES, J.; **Using ozonation and chloramination to reduce the formation of trihalomethanes and haloacetic acids in drinking water**. Desalination, n° 176, 2005, p. 229-240.

GUNTEN, U. von; **Ozonation of drinking water: Parte I. Oxidation kinetics and product formation**. Water Research, n°37, 2003, p. 1443-1467. (a)

GUNTEN, U. von; **Ozonation of drinking water: Part II. Disinfection an by-product formation in presence of bromide, iodide or chlorine**. Water Research, n°37, 2003, p. 1469-1487. (b)

HAMMES, F.; SALHI, E.; KÖSTER, O.; KAISER, H.-P.; EGLI, T.; GUNTEN, U. von; **Mechanistic and kinetic evaluation of organic disinfection by-product and assimilable organic carbon (AOC) formation during the ozonation of drinking water.** Water Research, n°40, 2006, p. 2275- 2286.

HENDERSON, R. K.; BAKER, A.; MURPHY, K. R.; HAMBLY, A.; STUETS, R. M.; KHAN, S. J.; **Fluorescence as a potential monitoring tool for recycled water systems: A review.** Water Research, n° 43, 2009, p. 863-881.

HORST, C.; SHARMA, V. K.; BAUM, C.; SOHN, M. **Organic matter source discrimination by humic acid characterization: Synchronous scan fluorescence spectroscopy and Ferrate (VI).** Chemosphere, n° 90, 2013, p. 2013-2019.

HUA, G.; KILLHAN, K.; SINGLETON, I.; **Potential application of synchronous fluorescence spectroscopy to determine benzo[a]pyrene in soil extracts.** Environmental Pollution, n°139, 2006, p. 272-278.

HUDSON, N.; BAKER, A.; RAYNOLDS, D.; **Fluorescence analysis of dissolved organic matter in natural, waste and polluted waters – A review.** River Research and Applications, n° 23, 2007, p. 631-649.

IBGE, **Pesquisa Nacional de Saneamento Básico 2008.** Rio de Janeiro: IBGE, 2010. 218 p.

ICHIHASHI, K.; TERANISHI, K.; ICHIMURA, A.; **Brominated trihalomethanes formation in halogenation of humic acid in the coexistence of hypochlorite and hypobromite ions.** Water Research, n°2, 1999, p.477-483.

ICHIHASHI, M.; UEDA, M.; BUDIYANTO, A.; BITO, T.; OKA, M.; FUKUNAGA, M.; TSURU, K.; HORIKAWA, T.; **UV-induced skin damage.** Toxicology, n° 189, 2003, p. 21- 39.

ISMAILI, M. M.; BELIN, C.; LAMOTTE, M.; TEXIER, H.; **Distribution et caractérisation par fluorescence de la matière organique dissoute dans les eaux de la Manche central.** Oceanologica Acta, n°5, 1998, p. 645- 654.

KIM, H.-C.; YU, M.-J.; HAN, I.; **Multi-method study of the characteristic chemical nature of aquatic humic substances isolated from the Han River, Korea.** Applied Geochemistry, n° 21, 2006, p. 1226-1239.

KLEISER, G.; FRIMMEL, F. H.; **Removal of precursors for disinfection by-products (DBPs): differences between ozone- and OH-radical-induced oxidation.** Science Total Environment, n°256, 2000, p.1-9.

KRISTIANA, I.; GALLARD, H.; JOLL, C.; CROUÉ, J. P.; **The formation of halogen-specific TOX from chlorination and chloramination of natural organic matter isolates.** Water Research, n°43, 2009, p. 4177-41866.

KUIVINEN, J.; JOHNSON, H.; **Determination of trihalomethanes and some chlorinated solvents in drinking water by headspace technique with capillary column gas-chromatography.** Water Research, n°5, 1999, p. 1201-1208.

KULOVAARA, M.; CORIN, N.; BACKLUND, P.; TERVO, J.; **Impact of UV₂₅₄-radiation on aquatic humic substances.** Chemosphere, n°5, 1996, p.783-790.

KUMKE, M. U.; LÖHMANNSRÖBEN, H. -G.; ROCH, Th.; **Fluorescence Spectroscopy of Polynuclear Aromatic Compounds in Environmental Monitoring.** Journal of Fluorescence, n° 2, 1995, p. 139-153..

KUZNIZ, T.; HALOT, D.; MIGNANI, A. G.; CIACCHERI, L.; KALLI, K.; TUR, M.; OTHONOS, A.; CHRISTOFIDES, C.; JACKSON, D. A.; **Instrumentation for the monitoring of toxic pollutants in water resources by means of neural network analysis of absorption and fluorescence spectra.** Sensors and Actuators B, n° 121, 2007, p. 231-237.

LAW, R. J.; **Hydrocarbon concentrations in water and sediments from UK marine waters, determined by fluorescence spectroscopy.** Marine Pollution Bulletin, n° 5, 1981, p. 153-157.

LEE, J.; HA, K.; ZOH, K.; **Characteristics of trihalomethanes (THM) production and associated health risk assessment in swimming pool waters treated with different disinfection methods.** Science of the Total Environment, n°407, 2009, p. 1990-1997.

LIU, W.; CHEUNG, L.M.; YANG, X.; SHANG, C.; **THM, HAA and CNCI formation from UV irradiation and chlor(am)ination of selected organic waters.** Water Research, n° 40, 2006, p. 2033-2043.

LIU, W.; ZHANG, Z.; YANG, X.; XU, Y.; LIANG, Y.; **Effects of UV irradiation and UV/chlorine co-exposure on natural organic matter in water.** Science of the Total Environment, n°414, 2012, p. 576- 584.

LU, J.; ZHANG T.; MA, J.; CHEN, Z. **Evaluation of disinfection by-products formation during chlorination and chloramination of dissolved natural organic matter fractions isolated from a filtered river water.** Journal of Hazardous Materials, n° 162, 2009, p. 140-145.

MAIA, R.; CORREIA, M.; PEREIRA, I. M. B.; BELEZA, V.; **Optimization of HS-SPME analytical conditions using factorial design for trihalomethanes determination in swimming pool water samples.** Microchemical Journal, n° 112, 2014, p. 164-171.

MALLEY, J. P.; SHAW, J. P.; ROPP, J. R.; **Evaluation of by-products produced by treatment of groundwaters with ultraviolet irradiation.** AWWA Research Foundation, Denver, CO, 1995.

MATILAINEN, A.; GJESSING, E. T.; LAHTINEN, T.; HED, L.; BHATNAGAR, A.; SILLANPÄÄ, M.; **An overview of the methods used in the characterization of natural organic matter (NOM) in relation to drinking water treatment.** Chemosphere, n°83, 2011, p. 1431-1442.

MEYER, S. T.; **O Uso de Cloro na Desinfecção de Águas, a Formação de Trihalometanos e os Riscos Potenciais à Saúde Pública.** Caderno de Saúde Pública, Rio de Janeiro, n°1, 1994, p. 99-110.

MIANO, T. M.; SENESI, N.; **Synchronous excitation fluorescence spectroscopy applied o soil humic substances chemistry.** Science Total Environment, n°117, 1992, p. 41.

NETO, B. B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E.; **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria.** - 4. ed. - Porto Alegre: Bookman, 2010.

NIKOLAOU, A. D.; GOLFINOPOULOS, S. K.; ARHONDITSIS G. B.; KOLOVOYIANNIS, V.; LEKKAS, T. D.; **Modeling the formation of chlorination by-products in river waters with different quality.** Chemosphere, n° 55, 2004, p. 409-420.

NOKES, C. J.; FENTON, E.; RANDALL, C. J.; **Modeling the formation of brominated trihalomethanes in chlorinated drinking waters.** Elsevier Science, n°17, 1999, p. 3557-3568.

NOVOTNY, E. H.; **Extração, fracionamento e caracterização espectroscópica da matéria orgânica do solo.** 1997. 122f. Dissertação (Mestrado em Agronomia, Ciência do Solo). Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 1997.

PAIM, S.; LINHAREM, L. F.; MANGRICH, A. S.; MARTIN, J. P.; **Characterization of fungal melanins and soil humic acids by chemical analysis and infrared spectroscopy**. *Biology and Fertility of Soil*, n° 10, 1990, p. 72-76.

PARANÁ. Lei Estadual n° 17.278 de 01 de agosto de 2012. **Dispõe sobre ação preventiva na área de saneamento básico com a redução do valor máximo permitido (VMP), para trihalometanos (TAM) e a fixação de valor para ácidos haloacéticos (HAA)**.

PANYAKAPO, M.; SOONTORNCHAI, S.; PAOPUREE, P.; **Cancer risk assessment from exposure to trihalomethanes in tap water and swimming pool water**. *Journal of Environmental Sciences*, n° 20, 2008, p. 372-378.

PANYAPINYOPOL, B.; MAHABA, T. F.; KANOKKANTAPONG, V.; PAVASANT, P.; **Characterization of precursors to trihalomethanes formation in Bangkok source water**. *Journal of Hazardous Materials*, n° B120, 2005, p. 229-236.

PAVÓN, J. L. P.; MARTÍN, S. H.; PINTO, C. G.; CORDERO, B. M.; **Determination of trihalomethanes in water samples: A review**. *Analytica Chimica Acta*, n° 629, 2008, p. 6-23.

PENRU, Y.; GUASTALLI, A. R.; ESPULGAS, S.; BAIG, S.; **Application of UV and UV/H₂O₂ to seawater: Disinfection and natural organic matter removal**. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, n° 233, 2012, p. 40-45.

PEREIRA, D. da C. F.; **Detecção de subprodutos da desinfecção com cloro em água dessalinizada**. 2007. 139f. Dissertação (Mestrado em Química). Departamento de Química, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, Portugal, 2007.

PEURAVUORI, J.; KOIVIKKO, R.; PIHLAJA, K.; **Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents: synchronous scanning fluorescence spectroscopy**. *Water Research*, n° 36, 2002, p. 4552- 4562.

PICCOLO, A.; ZACCHEO, P.; GENEVINI, P. G.; **Chemical characterization of humic substance extracted from Organic-Waste-Amended Soil**. *Bioresource Technology*, n°40, 1992, p. 275-282.

PICCOLO, A.; **The supramolecular structure of humic substances: A novel understanding of humus chemistry and implications in soil science**. Academic Press, Università Degli Studi di Napoli Federico II, 2002, Portici, Itália.

PORFIRIO, A. C. S.; SOUZA, J. L.; LYRA, G. B.; LEMES, M. A. M.; **An assessment of the global UV solar radiation under various sky conditions in Maceió-Northeastern Brazil**. Energy, n°44, 2012, p. 584-592.

PRIMO, D. C.; MENEZES, R. S. C.; SILVA, T. O.; **Substâncias húmicas da matéria orgânica do solo: uma revisão de técnicas analíticas e estudos no nordeste brasileiro**. Scientia Plena, n°5, 2011, p. 1-13.

RAMSEIER, M. K.; PETER, A.; TRABER, J.; VON GUNTEN, U.; **Formation of assimilable organic carbon during oxidation of natural waters with ozone, chlorine dioxide, chlorine, permanganate, and ferrate**. Water Research, n°45, 2011, p. 2002-2010.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C.; **Validação em métodos cromatográficos e eletroforéticos**. Química Nova, n°5, 2004, p. 771-780.

RICHARD, C.; COELHO, C.; GUYOT, G.; SHALOIKO, L.; TRUBETSKOJ, O.; TRUBETSKAYA, O.; **Fluorescence properties of the <5kDa molecular size fractions of a soil humic acid**. Geoderma, n° 163, 2011, p. 24-29.

RICHARDSON, S. D.; PLEWA, M. J.; WAGNER, E. D.; SCHOENY, R.; DEMARINI, D. M.; **Occurrence, genotoxicity, and carcinogenicity of regulated and emerging disinfection by-products in drinking water: A review and roadmap for research**. Mutation Research, n° 636, 2007, p. 178-242.

RODRIGUES, P. M. S. M.; SILVA, J. C. G. E.; ANTUNES, M.C.; **Factorial analysis of the trihalomethanes formation in water disinfection using chlorine**. Analytica Chimica Acta, n° 595, 2007, p. 266-274.

SAMIOS, S.; LEKKAS, T.; NIKOLAOU, A.; GOLFINOPOULOS, S.; **Structural investigations of aquatic humic substances from different watersheds**. Desalination, n° 210, 2007, p. 125-137.

SANCHES, S. M.; SILVA, C. H. T. de P. da; VIEIRA, E. M.; **Agentes Desinfetantes Alternativos para o Tratamento de Água**. Química Nova na Escola, N°17, 2003, p. 8-12.

SANCHES, S. M.; CAMPOS, S. X. de; VIEIRA E. M.; **Caracterização das frações das substâncias húmicas de diferentes tamanhos moleculares**. Eclética Química: São Paulo, n° 32, 2007, p. 49-56.

SANEP. **Serviço Autônomo de Saneamento de Pelotas**. Disponível em < <http://www.pelotas.rs.gov.br/sanep/tratamento/>> Acesso em 14 de abril de 2014.

SANTOS Jr., L. F.; **Estudo das frações obtidas no processo de extração alcalina de substâncias húmicas da turfa**. Dissertação (Mestrado em Engenharia). Departamento de Minas da Escola de Engenharia da UFRGS, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2003.

SCHMID, P.; KOHLER, M.; MEIERHOFER, R.; LUZI, S.; WEGELIN, M.; **Does the reuse of PET bottles during solar disinfection pose a health risk due to the migration of plasticisers and other chemical into the water?**. Water Research, n°42, 2008, p. 5054-5060.

SCHNITZER, M.; KHAN, S. U.; **Soil organic matter**. New York: Elsevier Science Publishers B. V., 4°ed, 1989.

SENESI, N.; D'ORAZIO, V. D.; RICCA, G.; **Humic acids in the first generation of EUROSOILS**. Geoderma, n° 116, 2003, p. 325-344.

SHIN, H.-S.; MONSALLIER, J. M.; CHOPPIN, G. R.; **Spectroscopic and chemical characterizations of molecular size fractionated humic acid**. Talanta, n° 50, 1999, p. 641-647.

SIÉLIÉCHI, J. -M.; LARTIGES, B. S.; KAYEM, G. J.; FROCHOT, C.; THIEME, J.; GHANBAJA, J.; d'ESPIROSE de la CAILLERIE, J. B.; BARRÈS, O.; KAMGA, R.; LEVITZ, P.; MICHOT, L. J.; **Changes in humic acid conformation during coagulation with ferric chlorine: Implications for drinking water treatment**. Water Research, n° 42, 2008, p. 2111-2123.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J.; **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**; tradução Ricardo Bicca de Alencastro. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A.; **Princípios de Análise Instrumental**. Trad. Ignez Caracelli...[et al]. – 5 ed. – Porto Alegre: Bookman, 2002

SODRÉ, F. F.; **Especiação do cobre em águas naturais: influência de fatores associados à urbanização**. 2005. 165f. Tese (Doutorado em Ciências). Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2005.

STEVENSON, F. J.; GOH, K. M.; **Infrared spectra of humic acids and related substances.** *Geochimica et Cosmochimica Acta*, n° 35, 1971, p. 471-488.

STEVENSON, F. J.. **Humus Chemistry: Genesis, Composition, Reactions.** New York: John Wiley & Sons, Inc., 1982.

SWIETLIK, J.; SIKORSKA, E. **Application of fluorescence spectroscopy in the studies of natural organic matter fractions reactivity with chlorine dioxide and ozone.** *Water Research*, n°38, 2004, p. 3791-3799.

TEKSOY, A.; ALKAN, U.; BASKAYA, H. S.; **Influence of the treatment process combinations on the formation of THM species in water.** *Separation and Purification Technology*, n°61, 2008, p. 447-454.

THIRIAT, N.; PAULUS, H.; LE BOT, B.; GLORENNEC, P.; **Exposure to inhaled THM: Comparison of continuous and event-specific exposure assessment for epidemiologic purposes.** *Environment International*, n° 35, 2009, p. 1086-1089.

THURMAN, E. M.; WERSHAN, R. L.; MALCOLM, R. L.; PINCKNEY, D. J.; **Molecular size of aquatic humic substances.** *Organic Geochemistry*, n° 1, 1982, p. 27-35.

TOMINAGA, M.; MÍDIO, A.; **A exposição humana a trihalometanos presentes em água tratada.** *Revista de Saúde Pública*, São Paulo, n°4, 1999, p. 413-421.

UYAK, V.; TOROZ, I.; MERİÇ, S.; **Monitoring and modeling of trihalomethanes (THM) for a water treatment plant in Istanbul.** *Desalination*, n° 176, 2005, p. 91-101.

UYGUNER, C. S.; BEKBOLET, M.; **Evaluation of humic acid photocatalytic degradation by UV-vis and fluorescence spectroscopy.** *Catalysis Today*, n° 101, 2005, p. 267-274.

VALENCIA, S.; MARÍN, J. M.; RESTREPO, G.; FRIMMEL, F. H.; **Application of excitations-emission fluorescence matrices and UV/Vis absorption to monitoring the photocatalytic degradation of commercial humic acid.** *Science of the Total Environment*, n° 442, 2013, p. 207-214.

VELASCO, M. I.; CAMPITELLI, P. A.; CEPPI, S. B.; HAVEL, J.; **Analysis of humic acid from compost of urban wastes and soil by fluorescence spectroscopy.** *Agriscientia*, n° I XXI, 2004, p. 31-34.

VILHUNEN, S.; VILVE, M.; VEPSÄLÄINEN, M.; SILLANPÄÄ, M.; **Removal of organic matter from a variety of water matrices by UV photolysis and UV/H₂O₂ method.** Journal of Hazardous Material, n°179, 2010, p. 776-782.

WESTERHOFF, P.; CHAO, P.; MASH, H.; **Reactivity of natural organic matter with aqueous chlorine and bromide.** Water Research, n° 6, 2004, p. 1502-1513.

WHO. **Guidelines for drinking-water quality [electronic resource]: incorporating 1st and 2nd addenda**, Vol. 1, Recommendations. – 3rd ed. Geneva, 2008.

WHO. **World Health Statistic, 2013.** WHO Library Cataloguing-in-Publication Data. Geneva, 2013.

XIAOLI, C.; GUIXIANG, L.; XIN, Z.; YOUCAI, Z.; **Fluorescence excitation-emission matrix combined with regional integration analysis to characterize the composition and transformation of humic and fulvic acids from landfill at different stabilization stages.** Waste Management, n°32, 2012, p. 438-447.

ZENG, Q.; LI, M.; XIE, S.; GU, L.; YUE, J.; CAO, W.; ZHENG, D.; LIU, A.; LI, Y.; LU, W.; **Baseline blood trihalomethanes, semen parameters and serum total testosterone: A cross-section study in China.** Environment International, n°54, 2013, p. 134-140.



Experimental design as a tool for studying trihalomethanes formation parameters during water chlorination



Larissa Bach^a, Ellery R. Garbelini^a, Sandra Stets^a, Patricio Peralta-Zamora^{a,*}, Alexandre Emmel^b

^a Departamento de Química, Universidade Federal do Paraná, C.P. 19081, 81531-980, Curitiba, Brazil

^b Centro Integrado de Tecnologia e Educação profissional, 81.310-010, Curitiba, Brazil

ARTICLE INFO

Article history:

Received 27 March 2015

Accepted 3 July 2015

Available online 08 July 2015

Keywords:

Humic acid

Chlorination

Trihalomethanes

Factorial design

ABSTRACT

Chlorination systems are widely used to ensure municipal drinking water's safety, providing defense against disease-causing organisms. However, previous studies indicated that, depending on the conditions of this treatment, a group of byproducts known as trihalomethanes (THMs), such as chloroform, may be formed and represent a considerable health risk. In this study, the effect of five variables (substrate and ClO^- concentration, presence of KBr, temperature, and pH) on THMs' formation during chlorination of aqueous solutions of humic acid is discussed using a factorial design. Results showed that in the absence of KBr, only traces of brominated THMs are produced, probably due to contamination of ClO^- by active bromine species. In the presence of KBr, the formation of chloroform is negligible, whereas within the group of brominated THMs, bromoform is produced in higher concentrations. Most relevant results are related to the existence of numerous higher-order effects, which shows the complexity of the involved reactions and also that THMs formation is not simply a function of substrate and ClO^- molar ratio but also depends on the number of reactive sites available for chlorination in the substrate.

© 2015 Published by Elsevier B.V.

1. Introduction

Toxic byproducts production during water disinfection by chlorination is known since the 1970s, when formation of haloforms by reaction between chlorine and natural organic matter contained in the raw water was first reported [1]. Since then, many disinfection byproducts have been identified and some of them are associated with public health risks through routes of ingestion, inhalation, and dermal absorption [2].

Over the last 40 years, many works have aimed to evaluate the effect of operational parameters on the formation of trihalomethanes (THMs) during the chlorination of water [3–7]. However, most of these studies are based on classical univariate experimental design and do not consider the interactions among all evaluated factors.

A multivariate optimization decreases the number of required experiments without loss of relevant information about the system. In particular, for factorial designs in which the number of variables are greater than four, a fractional factorial design is recommended in order to screen relevant factors and principal tendencies of each factor [8]. To perform a fractional factorial design, the number of experiments is $2^{K-P} + C$, where K is the number of variables, P indicates how fractionated the experimental design, is and C is the number of replicates at the central point [9].

In 2000, Judd and Black [10] studied the effect of selected variables on trihalomethanes formation in a model swimming pool, using a factorial design system. In that work, some two-order interactions were observed, which demonstrate the need to use multivariate analysis tools. Recently, Rodrigues et al. [11] has investigated the factors that affect trihalomethanes production during the chlorination of aqueous solutions of hydrophobic fulvic acids, using factorial analysis. According to them, the multivariate approach revealed to be very useful for a detailed evaluation of the disinfection process and THMs concentration prediction. Doederer et al. [2] evaluated the effect of operational parameters (reaction time, pH, and temperature) on disinfection byproducts (DBP) formation during disinfection of secondary effluent in the production of high-quality recycled water. The pH was the major influencing factor for most DBP formation, while temperature showed an influence that depends on the nature of the formed species.

Aquatic organic matter is the primary precursor of DBP [12]. However, due to the usual complexity of natural organic matter (NOM), many studies have involved the use of model substrates, including humic and fulvic acid, dihydroxyaromatic compounds, particularly meta-dihydroxybenzene structures (resorcinol), β -diketones, and carboxylic acids [13].

The main objective of present study was to examine, using factorial design, the effects of principal operational variables on trihalomethanes formation during chlorination of a model substrate aqueous solution. Humic acid was used as model substrate because of its high reactivity upon chlorine [14].

* Corresponding author. Tel.: +55 41 3361 3297; fax: +55 41 3361 3186.
E-mail address: zamora@ufpr.br (P. Peralta-Zamora).

2. Experimental

2.1. Chemicals

Commercial humic acid (HA) was purchased from Sigma-Aldrich (Elementary analysis: 39.4% C; 4.5% H; 0.6% N).

THM $2000 \mu\text{g mL}^{-1}$ standard solution in methanol was purchased from Supelco. Working solutions were daily prepared in ultrapure water (Milli-Q system).

Sodium hypochlorite solution and potassium bromide were purchased from VETEC. NaClO (106.9 g L^{-1}) solution was standardized by iodometric method before use.

Other chemicals, e.g. NaOH, HCl, and sodium thiosulphate, were analytical grade.

2.2. Fractional factorial design

HA degradation and THM formation during chlorination was evaluated by a two-level fractional factorial design (2^{5-1}), including a central point assayed in quintuplicate for experimental variance estimation. Variables and levels selection (Table 1) were carried out based on literature data [15–18]. The row entries for four first variables (HA, ClO[−], KBr, and T) were equivalent to a full 2^4 factorial design, leading to 16 runs. For the fifth variable (pH) was defined a design generator I = 12345, resulting in a relation $5 = 1234$ (resolution V).

The factorial design was processed based on two analytical responses: (1) the fluorescence signal associated to the presence of HA and (2) the THM concentration determined by HS-GC-ECD.

2.3. Chlorination procedure

Chlorination experiments were carried out following a 2^{5-1} fraction factorial design, performing all possible high/low combinations of input factors (Table 1), in a total of twenty-one experiments, including the central point quintuplicate. Samples were prepared by diluting HA, adding potassium bromide stocks solution (just on required), and adjusting pH using HCl and NaOH solutions.

The temperature of the system was kept constant with a well-controlled water-bath (Lauda Brikmann, New Jersey, USA). After thermal equilibrium (20 min), the required volume of sodium hypochlorite solution was added. The reaction was carried out during 120 min and was stopped by adding sodium thiosulfate (2 mol L^{-1} , 30 μL).

2.4. Fluorescence EEM measurements

Humic acid degradation was measured in a Hitachi F-4500 Spectrograph (Hitachi Co) in a standard 1 cm quartz cuvette, using a

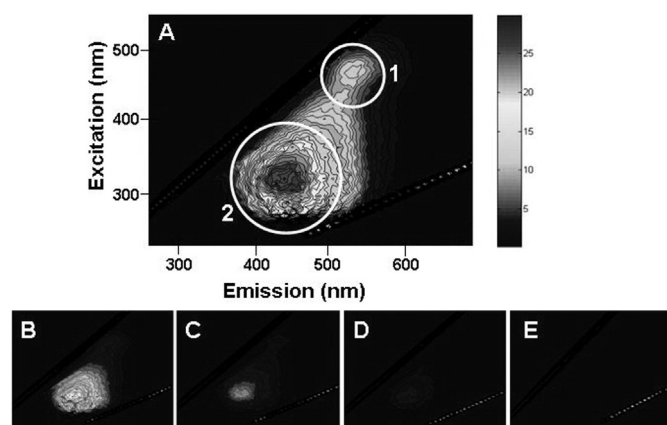


Fig. 1. Contour plot of humic acid at pH 7: (A) 20.0 mg L^{-1} ; (B) 10.0 mg L^{-1} ; (C) 5.0 mg L^{-1} ; (D) 3.0 mg L^{-1} ; (E) 1.0 mg L^{-1} .

3D Emission-Excitation matrix. Spectra were recorded between 250 and 550 nm (excitation wavelength) and 200 and 600 nm (emission wavelength), with scanning speed of 2400 nm min^{-1} in 5 nm steps. 3-D spectra were plotted in Matlab® 7.0.1 software.

2.5. Gas chromatographic

THM were identified and determined by gas chromatography on an Agilent 6890 Gas Chromatograph equipped with headspace injection system, DB5 capillary column ($30 \text{ m} \times 0.25 \text{ mm} \times 0.25 \mu\text{m}$) and electron capture detector (ECD). The method was developed based on European Standard EN ISO 10301 [19], with initial oven temperature 35°C for 5 min, increase to 150°C in 2 min, increase to 190°C at a rate of $20^\circ\text{C min}^{-1}$, then maintained at 190°C during 3 min; injector temperature: 250°C ; detector temperature: 300°C ; syringe temperature: 45°C , using helium as carrier gas. Headspace extraction conditions were oven temperature: 60°C , stirring: 5 min, 250 rpm (10 s ON, 3 s OFF).

3. Results and discussion

3.1. Preliminary considerations

As already related by Valencia et al. (2013) [18], 3D-EEM fluorescence spectroscopy has been useful in the characterization of natural organic matter. Since EEM shows characteristic signals which represent its main chemical structure, then this tool can be used to assess the transformation process in the NOM structure during the chlorination.

Table 1

Experimental design, factors, and corresponding levels under study.

Experiments	Humic acid (HA)	Hypochlorite (ClO [−])	Potassium bromide (KBr)	Temperature (T, °C)	pH
1	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	−1 (10°C)	+1 (8)
2	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	−1 (10°C)	−1 (6)
3	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	−1 (10°C)	−1 (6)
4	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	−1 (10°C)	+1 (8)
5	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (10°C)	−1 (6)
6	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (10°C)	+1 (8)
7	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (10°C)	+1 (8)
8	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (10°C)	−1 (6)
9	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	+1 (30°C)	−1 (6)
10	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	+1 (30°C)	+1 (8)
11	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	+1 (30°C)	+1 (8)
12	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (0.0)	+1 (30°C)	−1 (6)
13	−1 (1.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (30°C)	+1 (8)
14	+1 (5.0 mg L^{-1})	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (30°C)	−1 (6)
15	−1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (30°C)	−1 (6)
16	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (5.0 mg L^{-1})	+1 (1.0 mg L^{-1})	+1 (30°C)	+1 (8)
17–21	0 (2.5 mg L^{-1})	0 (2.5 mg L^{-1})	0 (0.5 mg L^{-1})	0 (20°C)	0 (7)

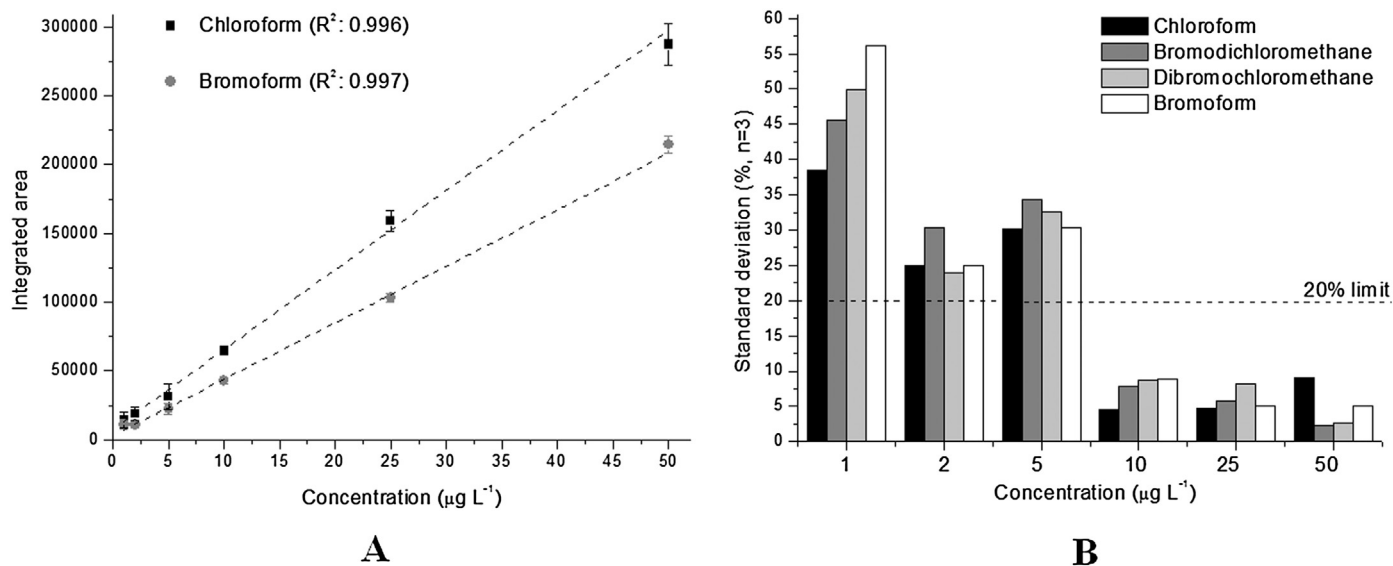


Fig. 2. (A) Analytical curves and (B) standard deviation in the determination of THM by HS-GC-ECD.

Fig. 1A shows the EEM contour plots of the humic acid (HA) selected as substrate model at pH 7, from which it is possible to observe two signals of different intensity. In general, fluorescence signals at longer wavelengths (region 1) are related to condensed aromatic rings, high molecular weight, and humification degree. On the other hand, fluorescence peaks at shorter wavelength (region 2) are usually associated with simple structural components with high content of aliphatic fraction and low degree of aromatic polycondensation [20]. The inner-filter effect was not observed at the studied concentration range ($1\text{--}20\text{ mg L}^{-1}$), allowing a good fluorescence intensity/concentration linearity (Fig. 1A–E).

As previously mentioned, THM concentrations were determined by gas chromatography using an electron capture detector and a head-space injection system. External analytical curves were linear between 1.0 and $50.0\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$, showing coefficients of determination (R^2) of 0.996 and 0.997 for chloroform and bromoform, respectively (Fig. 2A). Although quantification limits lower than $2.0\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ were calculated,

large deviations were observed in the determination of concentrations lower than $5.0\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$ (Fig. 2B), a value which was considered as method's quantification limit.

3.2. Formation of THM during the chlorination

The concentration THM found in each experiment of the factorial design is shown in Table 2. According to these results, the concentration of brominated THM was negligible in chlorination processes carried out in the absence of bromide (experiments 1–4 and 9–12). In most cases, the measured concentration was lower than the previously established limit of quantification ($5\text{ }\mu\text{g L}^{-1}$). On the other hand, the presence of bromide (experiments 5–8 and 13–16) practically inhibits the formation of chloroform, favoring the production of bromoform. For this reason, only chloroform and bromoform were considered in this preliminary assessment.

Table 2

Results obtained from HS-GC-ECD and from fluorescence spectroscopy in all 2^{5-1} factorial design experiments. Standard deviation estimative with 95% of confidence interval.

	RUN	Fluorescence intensity	CHCl_3	CHBrCl_2	CHBr_2Cl	CHBr_3	Total THMs	Total Br-THMs
Without Br^-	1	0.0	2.5	0.0	0.0	0.0	2.5	0.0
	2	14.5	1.6	0.0	0.5	0.0	2.1	0.5
	3	0.0	1.8	0.0	0.0	0.0	1.8	0.0
	4	18.7	35.9	0.0	0.4	0.0	36.3	0.4
With Br^-	5	0.0	0.0	0.0	0.9	1.8	2.7	2.7
	6	12.9	0.0	0.0	0.7	0.0	0.7	0.7
	7	1.5	0.9	2.2	4.4	4.8	12.3	11.4
	8	7.2	0.0	0.9	5.3	10.4	16.6	16.6
Without Br^-	9	0.0	2.6	0.0	0.0	0.0	2.6	0.0
	10	19.2	9.8	0.0	0.0	0.0	9.8	0.0
	11	1.7	11.6	0.0	0.0	0.0	11.6	0.0
	12	19.6	18.5	0.0	0.0	0.0	18.5	0.0
With Br^-	13	0.0	0.0	0.0	2.0	14.0	16.0	16.0
	14	12.6	0.0	0.0	2.0	4.5	6.5	6.5
	15	0.0	0.0	0.8	6.9	13.4	21.1	21.1
	16	9.1	1.9	8.7	32.0	54.6	97.2	95.3
	17	6.1	1.7	4.5	13.7	14.5	34.4	32.7
	18	6.7	0.8	2.6	10.3	12.6	26.3	25.5
	19	6.2	1.0	3.0	10.9	11.2	26.1	25.1
	20	5.9	1.2	3.2	11.6	12.3	28.3	27.1
	21	5.7	1.0	3.0	11.2	12.1	27.3	26.3
	s	0.4	0.3	0.7	1.3	1.2	–	–
$s \times t_{95\%}$		1.0	0.9	2.1	3.8	3.5	–	–

Specifically for chloroform, all studied variables showed relevant first-order effects (bold values), with the exception of temperature (Table 3). Positive effect of HA (5.8) and ClO^- (6.9) are quite evident and predictable, demonstrating a positive relationship between THM, substrate, and oxidizing agent concentrations.

The effect of pH on THM formation is related to their effect on the hypochlorous acid/hypochlorite equilibrium. Consequently, chlorination reactions are generally favored at $\text{pH} < 7$, because in acidic environment, the more active form HClO is preponderant [10]. Although in this condition, the pH effect was positive, which is consistent with the observations of Hong and coworkers who suggest that there is “high THM formation at high pH levels,” caused by hydrolysis of THMs precursors, such as trihalopropanones, trihaloacetonitriles, trihaloacetaldehydes [21].

On the other hand, the negative effect of bromide (−9.9) indicates that its presence disfavors chloroform generation, privileging the formation of brominated THM, particularly bromoform.

In case of bromoform formation, all first-order effects were significant (Table 3), specially the presence of bromide (12.9). As commented by Uyak and Toroz (2007) [7], it is well known that the chlorination of water in the presence of bromide ions leads to a greater proportion of brominated THMs, due to the stronger oxidant capacity of hypobromous acid (HOBr) and faster reactions with NOM.

Based on the observations of first-order effects in the main fractional factorial design, it was possible to simplify the study by dividing it in two smaller designs, using the presence of bromide as criteria. Since temperature had no significant effect on the formation of chloroform, it was eliminated as a factor, transforming the preliminary 2^{5-1} factorial design in a full 2^3 factorial design (Table 4). Initially, important first-order effects were observed. However, the existence of significant second-order effects requires a more detailed analysis, particularly the one involving the interaction observed between HA and ClO^- (9.0). The geometric representation of this interaction (Fig. 3) shows that chloroform generation does not depend on the individual variables or the molar ratio between them, but due to the combination of these factors. This implies that a molar excess of hypochlorite does not assure the generation of THM without the presence of a sufficient number of active sites in humic acid structure. Thereby, the best approach to control the generation of THMs is to improve the raw-water quality, specifically with respect to the dissolved organic carbon content.

Although superior order interactions have significant effects on chloroform production, a linear equation was calculated considering only first-order effects. Measured and predicted values were significantly correlated (0.90) (Fig. 4), excluding experiment 09 that led to a negative result using the equation. Thus, the model was considered satisfactory for prediction of chloroform in the absence of bromide.

Based on first-order effects in the formation of bromoform showed in Table 3, all variables had significant effects. Since the presence of bromide was used as criteria, variable effects were evaluated through a 2^{4-1} fractional design (Table 5), considering experiments 5–8 and 13–16. In this second fractional factorial design, all studied factors had significance, including second-order interactions that are confounded due to the nature of fractional design.

Table 3
First-order effects on chloroform and bromoform production in a 2^{5-1} partial factorial design for chlorination of humic acid.

Variable	First-order effect	
	Chloroform	Bromoform
HA	5.8	4.4
ClO^-	6.9	7.9
KBr	−9.9	12.9
T	0.0	8.7
pH	7.1	5.4
$s \times t_{95\%}$	0.9	3.5

Table 4

Reduced 2^3 factorial design to study the effect of humic acid, hypochlorite, and pH on the formation of chloroform during the chlorination of humic acid. First-, second-, and third-order effects.

Run	HA	ClO^-	pH	Chloroform ($\mu\text{g L}^{-1}$)
9	−	−	−	2.6
2	+	−	−	1.6
3	−	+	−	1.8
12	+	+	−	19.6
1	−	−	+	2.5
10	+	−	+	9.8
11	−	+	+	11.6
4	+	+	+	35.9
First-order effects				
HA				12.1
ClO^-				13.1
pH				8.6
Second-order effects				
HA \times ClO^-				9.0
HA \times pH				3.7
$\text{ClO}^- \times \text{pH}$				4.5
Third-order effects				
HA \times $\text{ClO}^- \times \text{pH}$				−0.4
$s \times t_{95\%}$				0.9

Disregarding significant second-order effects, a linear model was calculated using first-order effects. Results showed an excellent prediction capacity of the model (Fig. 5) with correlation coefficient of 0.94, excluding the results related to experiment 6. Those results showed that bromoform generation was as high as the levels of all variables studied.

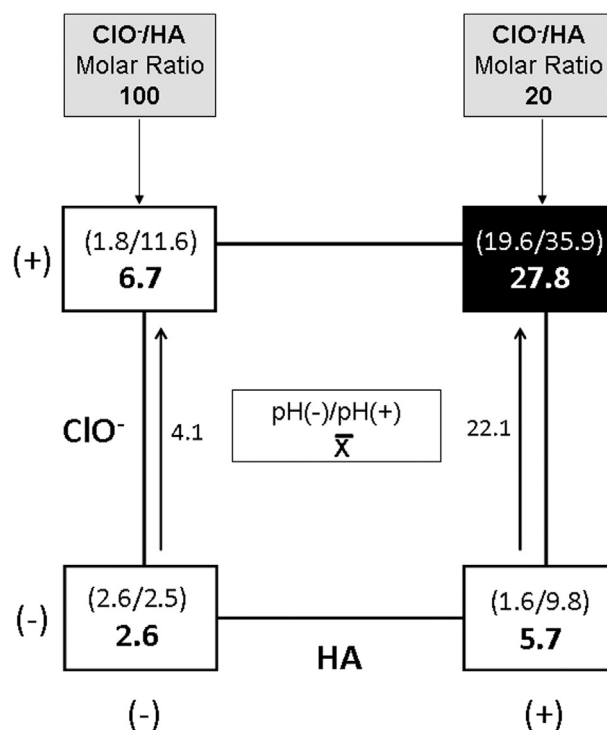


Fig. 3. Geometric representation of full 2^3 factorial design for bromide absence experiments.

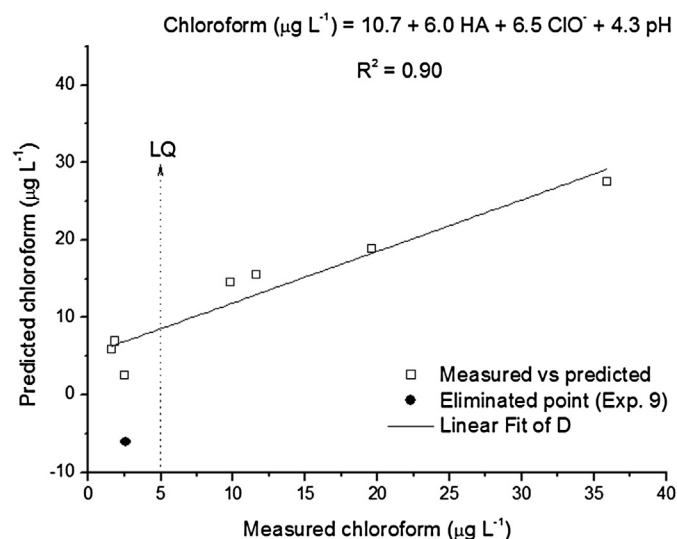


Fig. 4. Regression describing the relationship between real values and predicted values by linear model for the full 2^3 factorial design.

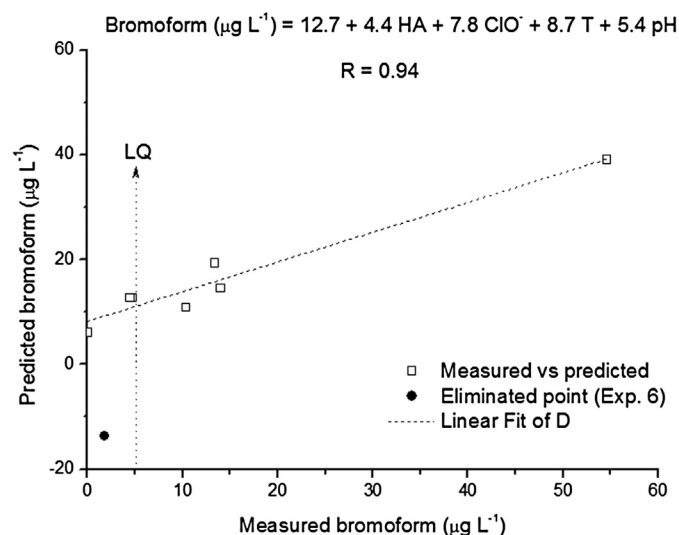


Fig. 5. Regression describing the relationship between real values and predicted values by linear model for the 2^{4-1} factorial design.

3.3. Humic acid degradation

Effects of the studied variables on humic acid degradation were assessed from the original 2^{5-1} fractional design (Table 2), considering the residual emission signal registered at 440 nm (region 2).

As expected, the most significant first-order effect (bold values) was humic acid concentration (Table 6), which implies that the signal intensity is proportional to concentration. pH has a slight significant positive effect, which suggests a more expressive fluorescence in deprotonated humic acid, due to higher molecular electronic conjugation. This effect is probably more intense than it seems, because according to THM formation results, experiments carried under higher pH also leads to more efficient oxidation of MON, which decreases signal intensity.

In contrast, KBr concentration has a significant negative effect in humic acid fluorescence signal, which might be explained by an advanced degradation of the fluorophore sites, due to a higher oxidizing power of hypobromite, or by a decrease in fluorescence caused by the incorporation of heavy atoms.

Table 5

Reduced 2^{4-1} factorial design to study the effect of humic acid, hypochlorite, temperature, and pH on the formation of bromoform during the chlorination of humic acid. First-, second-, and third-order effects.

Run	HA	ClO ⁻	T	pH	Bromoform
5	—	—	—	—	1.8
6	+	—	—	+	0.0
7	—	+	—	+	4.8
8	+	+	—	—	10.4
13	—	—	+	+	14.0
14	+	—	+	—	4.5
15	—	+	+	—	13.4
16	+	+	+	+	54.6
First-order effects					
HA					8.9
ClO ⁻					15.7
T					17.4
pH					10.8
Second-order effects					
HA × ClO ⁻ = T × pH					14.5
HA × T = ClO ⁻ × pH					7.0
HA × pH = ClO ⁻ × T					9.0
s × t _{95%}					3.5

According to these effects, the mildest conditions are represented by the experiment 4, HA(+), KBr(—), pH(+). Under these conditions, EEM contour plot (Fig. 6) shows preservation of aliphatic structures (region 2) and complete degradation of condensed aromatic rings, which demonstrates its greater liability toward chlorination process.

Under intermediary conditions represented by the center point (experiment 20), it was possible to observe an advanced degradation of aliphatic structures, while under the more vigorous conditions, in experiment 5, HA(—), KBr(+), pH(—), an almost total removal of fluorescence signal was observed, in both regions that characterize the fluorescence of the model substrate (Fig. 6). Even when all fluorescent groups were degraded under experiment 5 conditions, it was observed that the generation of THMs was almost zero (Table 2).

Second- and third-order effects are confounded in a fractional factorial analysis of resolution 5. Consequently, the second-order HA × KBr effect shows the same value of the third-order ClO⁻ × T × pH effect. However, ClO⁻ and T do not have significant first-order effects, suggesting that the third-order effect can be disregarded.

Table 6

First-, second-, and third-order effects on fluorescence intensity in a 2^{5-1} partial factorial design for chlorination of humic acid.

Factor		First-order effect
HA		13.8
ClO ⁻		−0.2
KBr		−3.8
T		0.9
pH		1.1
Factors		Second order/third order
HA × ClO ⁻	KBr × T × pH	1.0
HA × KBr	ClO ⁻ × T × pH	3.7
HA × T	ClO ⁻ × KBr × pH	0.9
HA × pH	ClO ⁻ × KBr × T	0.3
ClO ⁻ × KBr	HA × T × pH	1.7
ClO ⁻ × T	HA × KBr × pH	0.2
ClO ⁻ × pH	HA × KBr × T	0.1
KBr × T	HA × ClO ⁻ × pH	0.9
KBr × pH	HA × ClO ⁻ × T	0.2
T × pH	HA × ClO ⁻ × Br	1.7
s × t _{95%}		1.0

Humic acid

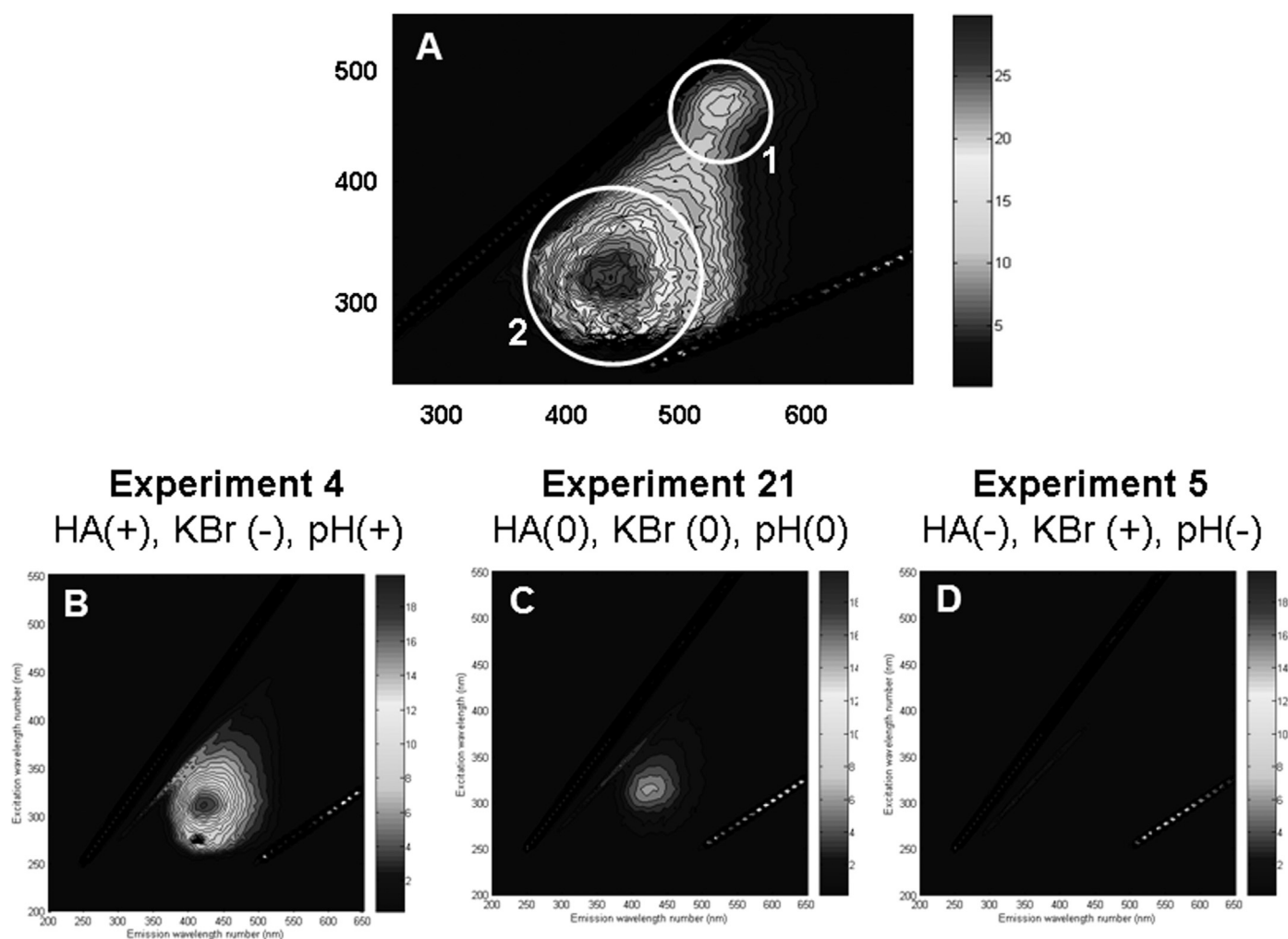


Fig. 6. Contour plots of humic acid at different experimental conditions: (A) initial; (B) experiment 4 (best conditions); (C) experiment 21 (central point); (D) experiment 5 (worst conditions).

The interaction between HA and KBr concentration can be better visualized in a geometric representation, as shown in Fig. 7. From this representation, it can be seen that the presence of bromide results in a

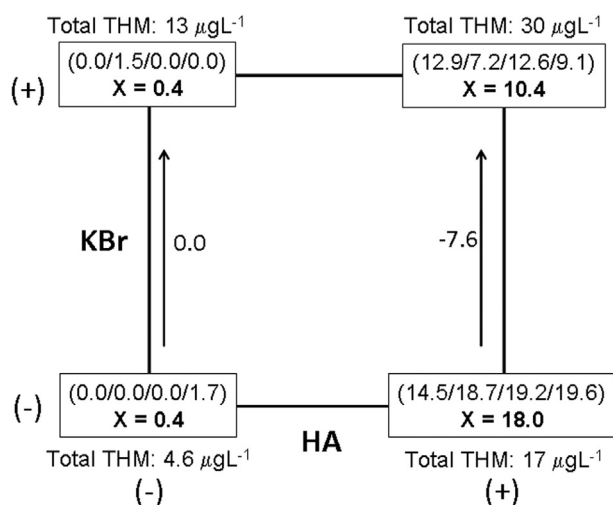


Fig. 7. Geometric representation of full 2^3 factorial design for presence bromide experiments.

significant decrease in spectral signal, only when high concentrations of HA are used. For low HA concentrations, the presence of bromide shows a negligible effect, mainly due to an advanced degradation of fluorescent structures promoted by chlorination itself. It is important to note that in all cases, the presence of bromide positively influences formation of total THMs, even in those cases in which chlorination effectively degrades fluorescent structures. This implies that the fluorophores are not necessarily THM precursors and that the presence of bromide definitively favors THMs production.

4. Conclusions

In conclusion, the use of factorial design systems proved to be convenient for multivariate evaluation of the THMs' formation during the chlorination of an aqueous solution of humic acid. The effects of relevant operational variables, humic acid, hypochloride, and potassium bromide concentrations, pH, and temperature, were evaluated, observing several higher-order effects, which implies a bigger complexity than commonly accepted. For chloroform production, in the absence of bromide, just three variables were statistically significant (HA, NaClO , and pH). On the other hand, the presence of bromide provides elevated brominated THMs concentrations, specially bromoform, which represents an important potential toxic risk. The optimum formation of THMs was obtained using all factors in the highest level.

Acknowledgements

The authors are grateful to SENAI for equipment support, Fundação Araucária and CNPQ (National Council for Scientific and Technological Development) for its financial support and scholarship.

References

- [1] S.E. Hrudey, Chlorination disinfection by-products, public health risk tradeoffs and me, *Wat. Res.* 43 (2009) 2057–2092.
- [2] K. Doederer, G. Wolfgang, H.S. Weinberg, M.J. Farré, Factors affecting the formation of disinfection by-products during chlorination and chloramination of secondary effluent for the production of high quality recycled water, *Wat. Res.* 48 (2014) 218–228.
- [3] D. Quaghebeur, E. de Wulf, Volatile halogenated hydrocarbons in Belgian drinking waters, *Sci Total Environ* 14 (1980) 43–52.
- [4] C.M. Morrow, R.A. Minear, Use of regression models to link raw water characteristics to trihalomethane concentrations in drinking water, *Wat. Res.* 21 (1987) 41–48.
- [5] P.J. Ossenbruggen, M. Gaudad, M.R. Collins, Predicting concentration in treated water with correlated data, *Math. Comput. Model.* 11 (1998) 1073–1076.
- [6] M.A. El-Dib, R.K. Ali, THMs formation during chlorination of raw Nile River water, *Wat. Res.* 29 (1995) 375–378.
- [7] V. Uyak, I. Toroz, Investigation of bromide ion effects on disinfection by-products formation and speciation in a Istanbul water supply, *J. Hazard. Mater.* 149 (2007) 445–451.
- [8] D.C. Montgomery, *Design and Analysis of Experiments*, John Wiley and Sons, New York, 1976.
- [9] S.A.L. Bastos, P.A.L. Lopes, F.N. Santos, L.A. Silva, Experimental design as a tool to study the reaction parameters in hydrogen production from photoinduced reforming of glycerol over CdS photocatalyst, *Int. J. Hydrogen Energ.* 39 (2014) 14588–14595.
- [10] S.J. Judd, S.H. Black, Disinfection by-product formation in swimming pool waters: a simple mass balance, *Wat. Res.* 34 (2000) 1611–1616.
- [11] P.M.S.M. Rodrigues, J.C.G.E. da Silva, M.C.G. Antunes, Factorial analysis of the trihalomethanes formation in water disinfection using chlorine, *Anal. Chim. Acta.* 595 (2007) 266–274.
- [12] J.-L. Liu, X.-Y. Li, Biodegradation and biotransformation of wastewater organics as precursors of disinfection byproducts in water, *Chemosphere.* 81 (2010) 1075–1083.
- [13] H. Gallard, U. von Gunten, Chlorination of natural organic matter: kinetics of chlorination and of THM formation, *Wat. Res.* 36 (2002) 65–74.
- [14] H. Zhang, J. Qu, H. Liu, D. Wei, Characterization of dissolved organic matter fractions and its relationship with the disinfection by-products formation, *J. Environ. Sci.* 21 (2009) 54–61.
- [15] A. Adin, J. Katzhendler, D. Alkaslassy, C. Rav-Acha, Trihalomethanes formation in chlorinated water: a kinetic model, *Wat. Res.* 25 (1991) 797–805.
- [16] K. Ichihashi, K. Teranishi, A. Ichimura, Brominated trihalomethane formation in halogenation of humic acid in the coexistence of hypochlorite and hypobromite ions, *Wat. Res.* 33 (1999) 477–483.
- [17] V. Uyak, I. Toroz, S. Meriç, Monitoring and modeling of trihalomethanes (THMs) for a water treatment plant in Istanbul, *Desalination* 176 (2005) 91–101.
- [18] S. Valencia, J.M. Marín, G. Restrepo, F.H. Frimmel, Application of excitation-emission fluorescence matrices and UV/Vis absorption to monitoring the photocatalytic degradation of commercial humic acid, *Sci. Total. Environ.* 442 (2013) 207–214.
- [19] European Standard EM ISSO 10301, Water quality: determination of highly volatile halogenated hydrocarbons, Gas-chromatographic methods 1997.
- [20] C. Xiaoli, L. Guixiang, Z. Xin, H. Yongxia, Z. Youcai, Fluorescence excitation-emission matrix combined with regional integration analysis to characterization the composition and transformation of humic and fulvic acids from landfill at different stabilization stages, *Waste Manage.* 32 (2012) 438–447.
- [21] H.C. Hong, Y. Liang, B.P. Han, A. Mazumder, M.H. Wong, Modeling of trihalomethane (THM) formation via chlorination of the water from Dongjiang River (source water for Hong Kong's drinking water), *Sci. Total Environ.* 385 (2007) 48–54.